



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESTUDIO COMPUTACIONAL DE COMPUESTOS ACTIVOS DE SOYA EN
LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENO E INHIBICIÓN DEL
RECEPTOR DE DOPAMINA.**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA:

XQUENDA GUADALUPE RIOS AGUILAR

DIRECTORAS DE TESIS:

DRA. NORMA ANGÉLICA CABALLERO CONCHA

DRA. MARÍA EUGENIA CASTRO SÁNCHEZ



FEBRERO 2025

Al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS-BUAP) por las facilidades otorgadas para realizar este trabajo mediante el proyecto: 202301007C



También agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) por el apoyo brindado mediante mi participación en el programa Ciencia a Bordo 2024



Agradezco al Cuerpo Académico BUAP-CA-263 “Investigación experimental y computacional de nuevos materiales y sistemas biomoleculares” (PRODEP-SEP).



Agradecimientos

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mis padres, quienes han sido la base de todo lo que soy y he logrado. Desde niña, han impulsado mis sueños y metas, y jamás han dejado de creer en mí. A toda mi familia por estar siempre a mi lado, brindándome su apoyo incondicional.

A mis amigos, quienes hicieron de la vida universitaria una experiencia inolvidable. Gracias por los consejos, los momentos compartidos, y por estar presentes en todo momento. En especial, quiero expresar mi agradecimiento a Erick, mi amigo y compañero de investigación. Tu dedicación y apoyo han sido esenciales en este camino. Gracias por estar siempre a mi lado, compartiendo ideas, enfrentando retos y haciendo que cada paso en este recorrido fuera más llevadero.

A Rodrigo, por su constante motivación e inspiración para que cada día busque ser una mejor versión de mí misma. Gracias por impulsarme a explorar nuevos horizontes y por ser un apoyo fundamental en cada paso de este camino.

Finalmente, a quienes hicieron posible la realización de esta tesis: A la Dra. Norma Angélica Caballero Concha, por confiar en mi trabajo e ideas, por apoyarlas y corregirlas, y por todas sus enseñanzas que me han guiado hacia el área que siempre soñé desde que ingresé a la carrera. Y a la Dra. María Eugenia Castro Sánchez, por su paciencia, conocimientos y guía en este proyecto.

Los resultados de este trabajo se presentaron en diversas actividades de divulgación científica y en la participación de los siguientes foros nacionales e internacionales:

- **Segundo concurso de infografías y podcast de divulgación del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla:** Participación con la infografía titulada *¿Por qué no tengo suficiente leche?*, el 16 de octubre de 2023.
- **Concurso de carteles por el 10° aniversario de la licenciatura en Biotecnología:** Presentación del cartel *Estudio computacional de compuestos activos de soya en la activación de receptores de prolactina y estrógeno*, los días 24 y 25 de octubre de 2023.
- **Revista Científica de Ciencias Biológicas CIBIOS - BUAP, número 6:** Publicación de la infografía *La soya como aliada en la producción de leche materna* en el periodo de septiembre a diciembre de 2023.
- **Programa Ciencia a Bordo 2024:** Participación con el cartel *La soya como aliada en la producción de leche materna*, presentado el 26 de septiembre de 2024.
- **Conferencia LatinXChem24 en la plataforma X:** Presentación del póster *Análisis computacional de isoflavonas de soya en la activación de receptores de estrógeno*, el 14 de octubre de 2024.
- **XXII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica 2024:** Participación con el póster *Estudio computacional de compuestos activos de soya en la activación de receptores de dopamina*, del 7 al 9 de noviembre de 2024.

Resumen

A nivel global, el 50% de las mujeres presenta hipogalactia, un síndrome de baja producción de leche materna que es una de las causas principales del abandono de la lactancia. En México, datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018-19 reflejan esta problemática, la cual tiene impactos significativos en los lactantes, limitando su nutrición, reduciendo su protección inmunológica y aumentando el riesgo de diabetes y obesidad en etapas posteriores.

La soya (*Glycine max*) ha despertado interés gracias a sus notables cantidades de isoflavonas, identificadas como fitoestrógenos por su similitud estructural con el estradiol. Dada la relevancia de los receptores de estrógeno y dopamina en la producción de leche materna, la interacción de isoflavonas como daidzeína, gliciteína, equol y genisteína podrían inducir respuestas beneficiosas mediante la activación de receptores de estrógeno y la inhibición de receptores de dopamina. Este proyecto se centró en simular la interacción molecular y evaluar la actividad biológica de las isoflavonas, con el fin de explorar su potencial terapéutico en la hipogalactia.

Índice

| | |
|---|----|
| Agradecimientos | 2 |
| Resumen..... | 4 |
| Índice de tablas | 8 |
| Introducción..... | 9 |
| Capítulo 1. Antecedentes | 11 |
| 1.1 Leche materna | 11 |
| 1.2 Fórmulas lácteas infantiles..... | 13 |
| 1.3 Beneficios de la lactancia..... | 15 |
| 1.3.1 Los neonatos | 15 |
| 1.3.2 Las madres | 17 |
| 1.3.4 Salud pública | 18 |
| 1.4 Fisiología de la lactancia..... | 21 |
| 1.4.1 Hipogalactia | 23 |
| 1.4.2 Receptor de dopamina | 24 |
| 1.4.3 Estrógeno | 26 |
| 1.5 Galactogogos..... | 27 |
| 1.5.1 La soya | 30 |
| Capítulo 2. Marco teórico | 32 |
| 2.1 Química computacional..... | 32 |
| 2.1.1 Teoría funcional de la densidad..... | 33 |
| 2.1.2. Conjunto de funciones de base | 34 |
| 2.1.3. Propiedades electrónicas..... | 35 |
| 2.1.4 Parámetros de reactividad global..... | 36 |
| 2.2 Acoplamiento molecular..... | 38 |
| 2.2.1 AutoDock | 39 |
| 2.2.2 GOLD | 43 |
| Capítulo 3. Planteamiento del problema, Hipótesis y Objetivos | 44 |
| 3.1 Planteamiento del problema | 44 |

| | |
|--|----|
| 3.2 Hipótesis | 45 |
| 3.3 Objetivo General | 45 |
| 3.4 Objetivos Específicos | 45 |
| Capítulo 4. Metodología | 46 |
| 4.1 Optimización estructural de las Isoflavonas | 46 |
| 4.3 Selección de receptores..... | 47 |
| 4.4.1 Preparación de receptores y archivos | 49 |
| 4.4.2 Parámetros del acoplamiento | 49 |
| 4.4.3 Visualización y Análisis..... | 50 |
| Capítulo 5. Resultados y discusión | 50 |
| 5.1 Estructura molecular y propiedades electrónicas..... | 50 |
| 5.1.2 Orbitales moleculares | 51 |
| 5.1.3 Mapas de potencial electrostático..... | 54 |
| 5.2 Descriptores de reactividad global | 56 |
| 5.3 Acoplamiento molecular..... | 57 |
| 5.3.1 Receptor de estrógeno | 57 |
| 5.3.2 Receptor de dopamina | 62 |
| Capítulo 6. Conclusiones | 66 |
| Bibliografía | 68 |

Índice de figuras

| | |
|---|---------------|
| Figura 1. Mortalidad por región geográfica de niños y madres atribuida a no amantar. | 19 |
| Figura 2. Costo económico total por región al año en millones de dólares (\$USD) derivado por no amamantar según la recomendación de la OMS..... | 20 |
| Figura 3. Costos evitables en el tratamiento de salud atribuidos a no amantar en México. | 21 |
| Figura 4. Motivos para nunca amamantar. | 24 |
| Figura 5. Regulación de la prolactina en la lactancia y mecanismo de acción de los galactagogos. | 25 |
| Figura 6. Diagrama de un alvéolo mamario mostrando la señalización del receptor de dopamina tipo 2 (D2R) en las células glandulares. | 26 |
| Figura 7. Esquema de la regulación de la elongación ductal en la mama durante la pubertad, la madurez y el embarazo..... | 27 |
| Figura 8. Producción de soya en toneladas por entidad federativa de México. | 30 |
| Figura 9. Planta de soya. | 31 |
| Figura 10. Isoflavonas derivadas de la soya..... | 32 |
| Figura 11. Esquema del proceso de acoplamiento molecular (docking). | 38 |
| Figura 12. Infografía del funcionamiento del algoritmo genético Lamarckiano..... | 40 |
| Figura 13. Receptor de estrógeno y de dopamina..... | 47 |
| Figura 14. Estructuras optimizadas de las isoflavonas | 50 |
| Figura 15. Orbitales moleculares frontera HOMO..... | 53 |
| Figura 16. Orbitales moleculares frontera LUMO. | 54 |
| Figura 17. Mapas de potencial electrostático. | 55 |
| Figura 18. Cavidad del receptor estrógeno..... | 59 |
| Figura 19. Mapas 3D de los compuestos de la interacción de los aminoácidos de interés del receptor de estrógeno..... | 60 |
| Figura 20. Mapas 2D de interacciones de los cinco ligandos con el receptor de estrógeno | Error! |
| Bookmark not defined. | |
| Figura 21. Cavidad del receptor D2 de dopamina.. | 63 |
| Figura 22. Mapas 3D de los compuestos de la interacción de los aminoácidos de interés del receptor de dopamina. | 64 |
| Figura 23. Mapas 2D de interacciones del receptor de dopamina. | 65 |

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Comparación de la composición nutrimental de la leche materna humana. | 11 |
| Tabla 2. Contenido de las normas en materia de fórmulas para lactantes. | 14 |
| Tabla 3. Estados del desarrollo mamario en el embarazo | 22 |
| Tabla 4. Galactogogos comúnmente usados por especialistas en lactancia para el tratamiento de la hipogalactia. | 28 |
| Tabla 5. Energías absolutas (u.a.) y relativas (kcal/mol) de las isoflavonas en estudio..... | 51 |
| Tabla 6. Energías de los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO (eV) y energía gap de las isoflavonas en estudio. | 51 |
| Tabla 7. Descriptores de reactividad global de las isoflavonas en estudio (eV) | 56 |
| Tabla 8. Puntuaciones GOLD y AutoDock4 del receptor de estrógeno y el conjunto de las isoflavonas en estudio..... | 58 |
| Tabla 9. Puntuaciones GOLD y AutoDock Vina del receptor de dopamina y el conjunto de las isoflavonas en estudio..... | 62 |

Introducción

La lactancia materna se destaca por ser la opción más adecuada para la alimentación de un bebé durante sus primeras etapas de vida, ya que suministra los nutrientes esenciales y los factores de protección indispensables para su desarrollo y bienestar [1]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que la lactancia materna sea exclusiva durante los primeros seis meses de vida del bebé, seguida de la lactancia complementaria hasta los 24 meses de edad [2].

De acuerdo con la OMS, la lactancia materna exclusiva (LME) es una práctica en donde el único alimento proporcionado a un infante es la leche proporcionada por su madre, una nodriza o un biberón con leche donada, siendo esta la práctica más recomendada para los niños al menos durante sus primeros 3 meses de vida [3].

La hipogalactia es un síndrome caracterizado por la insuficiente producción de leche materna, afecta a aproximadamente el 50% de las mujeres a nivel mundial, siendo una razón principal para la interrupción de la lactancia materna en favor de fórmulas lácteas [4]. En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2018-19 respalda esta tendencia [5]. Este fenómeno repercute negativamente en la calidad de vida de los lactantes al privarlos de nutrientes esenciales, disminuir su protección contra enfermedades y aumentar las probabilidades futuras de diabetes u obesidad.

Los tratamientos actuales para la hipogalactia a menudo generan efectos secundarios adversos, como fatiga, aumento de peso y cambios de humor [6]. En busca de alternativas más seguras, se exploran los galactogogos naturales, siendo aquellos compuestos presentes en plantas que estimulan o mantienen la producción de leche materna [7].

La soya ha despertado un interés especial gracias a sus notables cantidades de isoflavonas, clasificadas como fitoestrógenos por su similitud estructural con el estradiol [8]. Dada la relevancia de los receptores de dopamina en la regulación de la prolactina y el receptor del estrógeno en la producción de leche materna [9-12], la interacción de estas isoflavonas con estos receptores podría generar respuestas positivas en el tratamiento de la hipogalactia.

Este proyecto se centró en utilizar métodos computacionales para modelar, simular y evaluar la actividad biológica de las isoflavonas, con el fin de explorar su potencial terapéutico en la hipogalactia al activar los receptores de estrógeno e inhibir el receptor de dopamina. Esta tesis está dividida en seis capítulos que se desarrollan de la siguiente manera:

Capítulo 1: Se presentan los antecedentes relacionados con la lactancia y la leche materna, incluyendo sus beneficios para la madre y el recién nacido, así como su importancia en la salud pública. También se abordan los antecedentes fisiológicos de la lactancia, de los receptores de estrógeno y dopamina. Así como las características de los galactogogos y las isoflavonas en estudio

Capítulo 2: Se exponen los fundamentos teóricos de las herramientas computacionales necesarias para la realización del trabajo.

Capítulo 3: Este capítulo comprende el planteamiento del problema, la hipótesis y objetivos. Se justifica la relevancia del estudio y se describen las preguntas de investigación que guían el proyecto.

Capítulo 4: Se detalla la metodología de la investigación, incluyendo los métodos y procedimientos utilizados para la optimización de las isoflavonas, el tratamiento para el acoplamiento y los parámetros empleados en este proceso.

Capítulo 5: Se presentan los resultados y la discusión, explicando la actividad de cada una de las isoflavonas estudiadas con los receptores de estrógeno y dopamina, y la relación de esta actividad con las propiedades electrónicas y de reactividad química descritas por las isoflavonas.

Capítulo 6: Se presentan las conclusiones, discutiendo las implicaciones del proyecto y proponiendo recomendaciones para futuras investigaciones.

Finalmente se incluye la bibliografía consultada durante el proyecto de tesis.

Capítulo 1. Antecedentes

1.1 Leche materna

La leche contiene entre 87 y 88% de agua. Encontrando una gran variedad de componentes como macronutrientes, carbohidratos, proteínas y micronutrientes (Tabla 1). También se encuentra una variedad de microorganismos esenciales para la formación del microbioma y microARNs relevantes en la construcción del sistema inmune [13]. Además, la leche materna es inigualable por su capacidad de adaptación a las necesidades del bebé. En las primeras horas del postparto se produce el calostro, el cual es leche especializada que contiene en mayor cantidad componentes inmunológicos y factores de desarrollo priorizando aumentar la capacidad inmunológica de los infantes. La leche madura, presente alrededor de las dos semanas posteriores al parto, contiene una mayor cantidad de lactosa que comenzará a satisfacer las necesidades nutricionales y de desarrollo del bebé que va en aumento [14].

Tabla 1. Comparación de la composición nutrimental de la leche materna humana.

| Contenido | Calostro | Leche madura |
|-----------------------------|--------------|--------------|
| Energía (kcal) | 50–60 | 65–70 |
| Carbohidratos (g/L) | 50–62 | 60–70 |
| Lactosa | 20–30 | 67–70 |
| Oligosacáridos | 20–24 | 12–14 |
| Proteína total (g/L) | 14–16 | 8–10 |
| Grasas totales (g/L) | 15–20 | 35–40 |
| Micronutrientes | | |
| Hierro | 0.5–1.0 mg/L | 0.3–0.7 mg/L |
| Calcio | 250 mg/L | 200–250 mg/L |
| Fósforo | 120–160 mg/L | 120–140 mg/L |

| | | |
|-----------|--------------|--------------|
| Magnesio | 30–35 mg/L | 30–35 mg/L |
| Sodio | 300–400 mg/L | 150–250 mg/L |
| Cloruro | 600–800 mg/L | 400–450 mg/L |
| Potasio | 600–700 mg/L | 400–550 mg/L |
| Manganeso | 5–12 µg/L | 3–4 µg/L |
| Yodo | 40–50 µg/L | 140–150 µg/L |
| Selenio | 25–32 µg/L | 10–25 µg/L |
| Cobre | 0.5–0.8 µg/L | 0.1–0.3 µg/L |
| Zinc | 5–12 µg/L | 1–3 µg/L |

Calostro de (1-5 días de postparto), leche madura (>14 días) [13].

Tanto en el calostro como en la leche madura se encuentra una gran cantidad de componentes que pueden variar de acuerdo con factores relacionados con la madre como la dieta, la salud, la población a la que pertenece y los factores ambientales [13,14].

Los macronutrientes presentes en la leche materna, como los carbohidratos, proteínas y grasas, varían en concentración a lo largo de la lactancia, cada uno desempeñando funciones importantes para el desarrollo del bebé. Por ejemplo, la lactosa, el carbohidrato más abundante, es fácilmente digerible por la mayoría de los bebés y fundamental en el aporte energético. Además, los oligosacáridos actúan como prebióticos, llegando al colon sin ser digeridos y apoyando al microbioma intestinal [13].

En cuanto a las proteínas, las más comunes incluyen la caseína, la α -lactoalbúmina, la lactoferrina, la IgA secretora (sIgA), la lisozima y la albúmina sérica, las cuales son necesarias para la protección contra patógenos. Su concentración es abundante en las primeras semanas y disminuyen gradualmente a medida que avanza el postparto [14]. Las grasas, por su parte, aportan la mayor parte de la energía y son esenciales para el crecimiento y continuo desarrollo del infante [15].

Por otro lado, los micronutrientes incluyen las vitaminas A, B1, B2, B6, B12, D, que son esenciales para el correcto funcionamiento del metabolismo y el desarrollo del sistema inmunológico. Los minerales como el hierro, calcio, fósforo, magnesio, sodio, cloruro, potasio, manganeso, yodo, selenio, cobre y zinc son necesarios para el correcto funcionamiento de proteínas y enzimas, así como de la formación y mineralización de los huesos [13,16].

Además, se ha reportado que la lactancia materna es indispensable para contribuir en el desarrollo de comunidades microbianas que colonizarán el sistema digestivo de los infantes siendo *totalmente* relevantes en la inmunomodulación y el metabolismo endógeno. Las especies más frecuentes son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Cutibacterium acnes*, *Enterococcus faecalis*, *Bifidobacterium breve*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguinis*, *Lactobacillus gasseri* y *Salmonella enterica* [13,17].

Por último, los miARN son secuencias cortas de ARN no codificante cruciales en la regulación de la expresión génica [13]. El estudio de estos miARN ha cobrado relevancia debido a su presencia en la leche materna, donde miR-155 y miR-221, desempeñan funciones inmunes y metabólicas en los lactantes [13, 18,19].

Todos estos componentes hacen que la leche materna sea un alimento sumamente importante para los niños, ya que contiene elementos irremplazables por alternativas como las fórmulas lácteas.

1.2 Fórmulas lácteas infantiles

Las fórmulas lácteas infantiles son productos diseñados para alimentar a los infantes desde su etapa de recién nacidos hasta su crecimiento. Su objetivo es complementar la alimentación o, en algunas situaciones, sustituir por completo la leche materna como alimento principal del bebé [20]. Además, algunos productos pueden incluir compuestos bioactivos adicionales, como probióticos y proteínas con funciones especializadas, tales como caseínas, α -lactoalbúmina, lactoferrina, lisozima e IgA secretora. No obstante, estas últimas requieren más estudios para evaluar su biodisponibilidad y eficacia fisiológica [20, 21].

En México, se encuentra una gran variedad de estas fórmulas, las cuales están reguladas por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) y las Normas Oficiales Mexicanas (NOM). La NOM-131-SSA1-2012 es la principal norma para su etiquetado y métodos de prueba, aunque también existen otras normas que complementan esta regulación (Tabla 2).

Tabla 2. *Contenido de las normas en materia de fórmulas para lactantes.*

| Normas Oficial Mexicana | Contenido |
|--------------------------------|---|
| NOM-131-SSA1-2012 | Establece las disposiciones y especificaciones sanitarias, nutrimentales y de etiquetado que deben cumplir las fórmulas para lactantes. Así como los métodos de prueba. |
| NOM-007-SSA2-1993 | Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio. |
| NOM-051-SCFI/SSA1-2010 | Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados. Información comercial y sanitaria. |
| NOM-086-SSA1-1994 | Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales. |
| NOM-130-SSA1-1995 | Bienes y Servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias. |
| NOM-251-SSA1-2009 | Prácticas de higiene para el proceso de |

alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.

Contenido obtenido del Diario oficial de la Federación [22].

En el año 2022, la COFEPRIS analizó 18 fórmulas para lactantes y publicó los resultados en la edición de abril de la *Revista del Consumidor*. Se destacó que todas las fórmulas cumplieron con las Normas Oficiales Mexicanas (NOM), presentaron información nutrimental correcta y cumplen con los estándares de calidad sanitaria [23]. Sin embargo, de las 18 fórmulas analizadas, 13 contenían aceite de palma como aditivo, lo que es particularmente preocupante debido a los posibles efectos adversos en los bebés, como la disminución de la absorción de nutrientes, principalmente de calcio y grasas [24].

Además, aunque estas fórmulas lácteas puedan contener complementos adicionales como probióticos, es crucial señalar que no se pueden comparar con los componentes de la leche materna. Por lo tanto, todas las fórmulas deben incluir una leyenda que afirme la superioridad de la lactancia materna, tal como lo dicta la NOM-131-SSA1-2012 [23]. Esta advertencia no solo es un requisito normativo, si no una medida fundamental para asegurar que los padres estén debidamente informados sobre la importancia de la lactancia materna y su impacto sobre la salud de sus hijos.

1.3 Beneficios de la lactancia

1.3.1 Los neonatos

La leche materna ofrece numerosos beneficios para la salud del recién nacido, ya que proporciona nutrientes, factores de crecimiento, anticuerpos y células madre altamente biodisponibles y con gran bioactividad [25]. Esto se refleja en una reducción de la mortalidad infantil en un 79% cuando los recién nacidos son amamantados en la primera hora después del nacimiento, en comparación con aquellos que son amamantados después de la segunda hora [26].

Las inmunoglobulinas, citocinas, leucocitos y factores de crecimiento presentes en la leche materna desempeñan un papel crucial en el desarrollo del sistema inmunológico de los recién nacidos [27]. Se analizaron 38 marcadores relacionados con la respuesta inmune en el suero sanguíneo de niños de 3, 6, 12, 18, 24 y 36 meses de edad, y se encontró que 14 de estos marcadores permanecen durante los primeros dos años de vida en los niños que fueron amamantados durante más de 6 meses, en contraste con aquellos alimentados por un periodo de tiempo más corto [28].

Además de los nutrientes presentes en la leche, la nutrición del bebé se ve beneficiada por el microbioma de la madre que se transfiere al bebé a través de la lactancia. Este microbioma materno es fundamental para preparar y formar el microbioma del bebé, y es clave para la digestión de los oligosacáridos [29].

Asimismo, se ha evidenciado el impacto de la leche materna en el desarrollo cognitivo de los infantes. Una investigación que utilizó resonancia magnética para analizar el cerebro de niños y adolescentes nacidos prematuros, alimentados con leche materna donada, reveló un aumento en la materia blanca en comparación con aquellos que no recibieron leche materna, dicho incremento está estrechamente relacionado con la mejora en la cognición [30]. Además, en otro estudio se observó un aumento en el volumen de la materia gris, lo cual ha mostrado un impacto positivo en el desarrollo cognitivo, conductual, de la memoria y del lenguaje en los lactantes de leche materna en comparación con los alimentados con fórmula láctea [31].

La administración de leche materna desde el nacimiento también se asocia con una reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares a largo plazo, posiblemente debido a los factores de crecimiento, componentes inmunológicos y oligosacáridos presentes en la leche materna [25]. Además, se ha demostrado una disminución en el riesgo de sobrepeso y obesidad, sugiriendo que la lactancia materna puede reducir la probabilidad de desarrollar diabetes tipo 2 [31].

La lactancia también actúa como un factor protector contra el cáncer infantil. Los niños amamantados durante más de tres meses presentan un menor riesgo de cánceres hematológicos, y los metaanálisis indican que aquellos amamantados por al menos

seis meses tienen aproximadamente un 20% menos de probabilidades de desarrollar leucemia en comparación con los alimentados durante un periodo más corto [24,32].

La leche materna no solo proporciona una nutrición óptima, sino que también promueve el desarrollo saludable en múltiples aspectos, incluyendo la salud inmunológica, cognitiva y metabólica del infante, estableciendo bases sólidas para su bienestar a largo plazo.

1.3.2 Las madres

La lactancia materna no solo beneficia a los recién nacidos, sino que también tiene importantes efectos en la salud de las madres. En primer lugar, puede reducir la fertilidad a través del método conocido como amenorrea de la lactancia. Este método, cuando se utiliza adecuadamente y se cumplen ciertos criterios —como no haber pasado más de seis meses desde el parto, amamantar de forma exclusiva o casi exclusiva y mantener la amenorrea postparto— puede ofrecer una alta confiabilidad como método anticonceptivo, con una efectividad de hasta el 98% [32].

Además, la lactancia implica un alto costo energético, alrededor de 500 kcal/día, lo que contribuye a la pérdida del peso ganado durante el embarazo. Esta pérdida de peso se vuelve más significativa cuanto más tiempo se mantenga la lactancia [33].

Desde el punto de vista de la salud, amamantar está asociado con una reducción del riesgo de cáncer de mama en un 4.3% por cada 12 meses de lactancia materna. Este beneficio es aún más significativo en mujeres con antecedentes familiares de cáncer de mama [34]. Asimismo, el riesgo de cáncer de ovario también disminuye, tanto para cáncer invasivo como para tumores limítrofes. En mujeres que amamantaron al menos 3 meses, el riesgo se reduce en un 18%, y en aquellas que amamantaron durante 12 meses o más la reducción puede alcanzar hasta un 34% [35].

Finalmente, amamantar durante más de 12 meses está asociado con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares en las madres. Los riesgos se reducen en un 11% para enfermedades cardiovasculares generales, en un 14% para enfermedad coronaria, en un 12% para accidentes cerebrovasculares y en un 17%

para eventos fatales relacionados con enfermedades cardiovasculares [36]. La lactancia también contribuye a una reducción del 13% en el riesgo de hipertensión y del 30% en el riesgo de diabetes [37].

La lactancia materna no solo es esencial para el desarrollo saludable del bebé, sino que también ofrece múltiples beneficios para la salud de las madres. Estos aspectos resaltan la importancia de fomentar la lactancia materna como una práctica fundamental en la salud pública.

1.3.4 Salud pública

Como ya se mencionó, la falta de lactancia materna tiene graves consecuencias para la salud del lactante y la madre. A esto se suman los costos económicos y sanitarios que afectan a la familia y la sociedad, debido a los gastos en atención médica y al impacto ambiental generado por la producción de fórmulas infantiles [39].

Un análisis global que ha utilizado bases de datos de libre acceso reveló que aproximadamente el 56% de la mortalidad infantil atribuible a la falta de lactancia ocurre en África Subsahariana. En cuanto a las madres, el 38% de la mortalidad se presenta en el Este de Asia y el Pacífico (Figura 1) [39].

Mortalidad de niños y madres atribuida a no amamantar por región

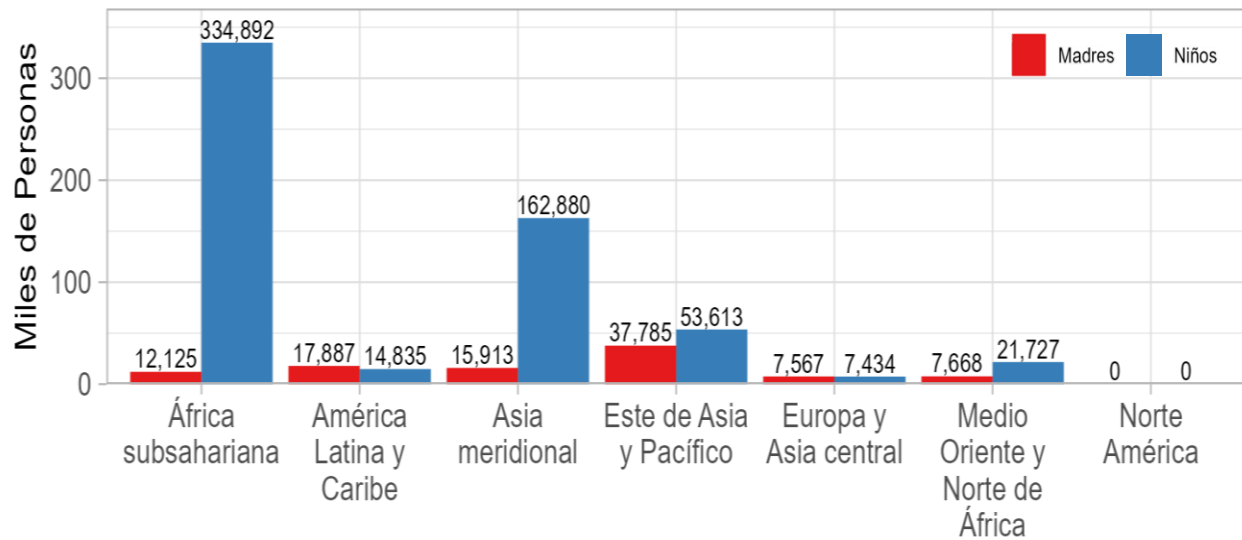


Figura 1. Mortalidad por región geográfica de niños y madres atribuidas a no amantar. Se observan los datos de la muerte de niños en color azul y madres en color rojo por año. Generada a partir de los datos obtenidos de [39].

Los costos totales acumulados en el sector salud, que incluyen los gastos médicos directos para el tratamiento de casos de diarrea y neumonía infantil, así como de diabetes tipo II en mujeres atribuibles a la falta de lactancia materna, se estiman en 341,300 millones de dólares anuales, representando aproximadamente el 0.7% del Producto Interno Bruto (PIB) mundial. Al desglosar estas cifras por regiones, se observa que América del Norte enfrenta el mayor gasto anual asociado con la falta de lactancia materna recomendada, estimado en 114.97 millones de dólares. Esta región es seguida por el Este de Asia y el Pacífico (Figura 2) [39].

Costo económico total por región al año en millones de dólares (\$USD) derivado por no amamantar según la recomendación

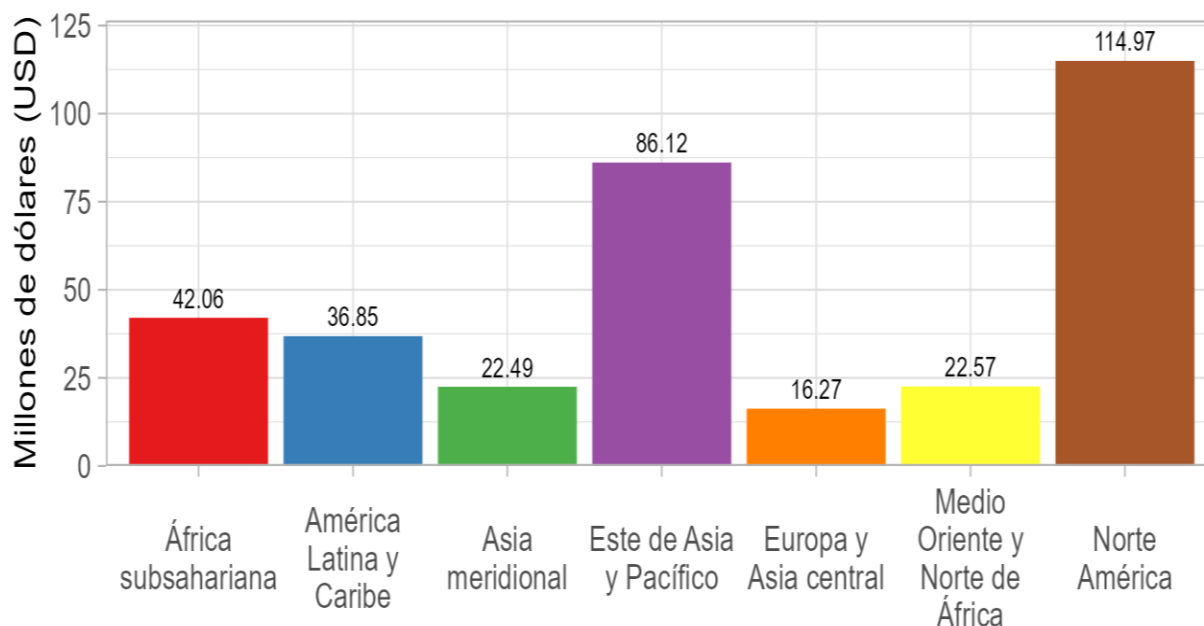


Figura 2. Costo económico total por región al año en millones de dólares (\$USD) derivado por no amamantar según la recomendación de la OMS. Adaptada de [39].

Derivado del análisis del 53% de la población total de todos los países en desarrollo, entre ellos México, se tuvo un costo sanitario estimado de 47 millones de dólares al año debido a prácticas inadecuadas de amamantamiento. Este costo se puede desglosar según las diferentes enfermedades atribuidas a estas malas prácticas (ver Figura 3), siendo los costos asociados a la neumonía los más altos para el sistema de salud mexicano, con un gasto anual de 25,223,420 dólares.

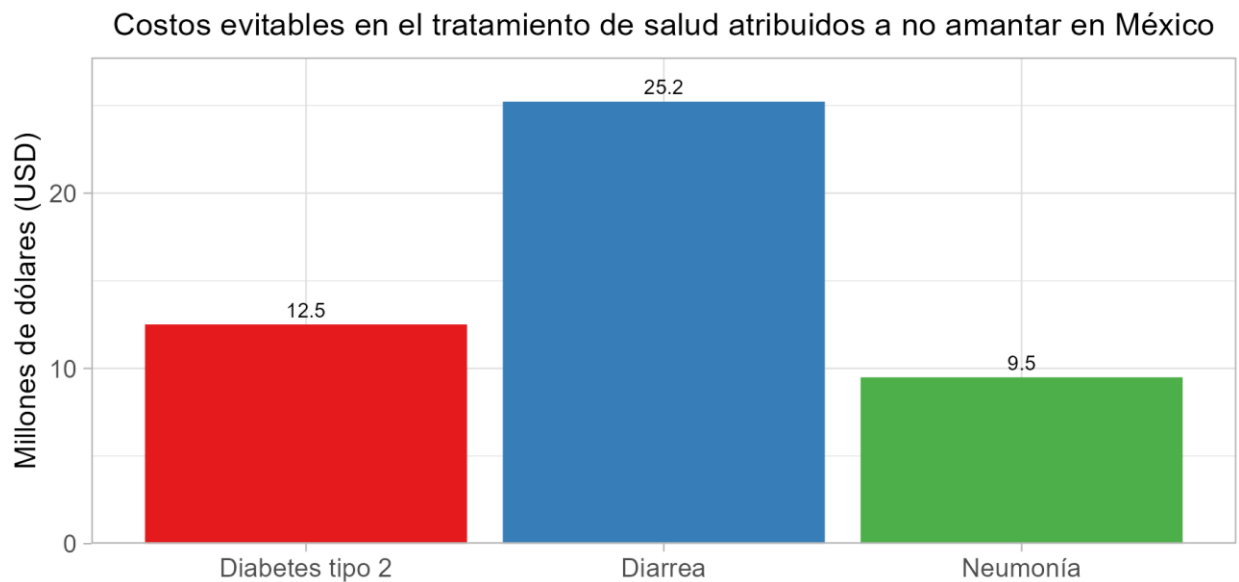


Figura 3. Costos evitables en el tratamiento de salud atribuidos a no amantar en México. El costo económico por tratamiento a niños por año en México en millones de dólares (\$USD). Datos obtenidos del material suplementario de [39].

Seguir las prácticas adecuadas de lactancia materna puede prevenir numerosos casos de mortalidad a nivel mundial, además de reducir los costos asociados en la salud pública. Estas tendencias también se observan en México, donde la adopción de prácticas correctas de lactancia no solo beneficia a madres e hijos, sino que también tiene un impacto positivo en la sociedad en general.

1.4 Fisiología de la lactancia

La glándula mamaria humana es el único órgano que no está completamente desarrollado al momento del nacimiento. Experimenta cambios significativos en tamaño, forma y función desde el nacimiento, pasando por el embarazo y la lactancia hasta la eventual regresión (Tabla 3). Estos cambios incluyen modificaciones permanentes en el pecho que proporcionan un efecto protector [40].

Durante el embarazo, el aumento de los niveles hormonales provoca cambios anatómicos y fisiológicos en el pecho maduro. El epitelio alveolar crece y comienza a secretar componentes de la leche en respuesta a los niveles elevados de estrógeno. Los niveles de progesterona aumentan significativamente induciendo la ramificación y el agrandamiento lobular en el pecho. Al mismo tiempo, los niveles de estrógeno

también aumentan promoviendo principalmente la proliferación y elongación de los conductos.

El estrógeno afecta además el tamaño y la actividad de la glándula pituitaria, aumentando su tamaño hasta en un 36% y estimulando la producción de prolactina, que induce la lactancia en las células alveolares de los lóbulos mamarios. Para la vigésima semana de gestación, las glándulas mamarias están suficientemente desarrolladas para producir componentes de la leche debido a la estimulación de la prolactina. Tras el nacimiento, se produce una rápida disminución de la progesterona y un aumento en los niveles de prolactina y oxitocina, facilitando así la producción y eyección de la leche. La estimulación del complejo pezón-areola por el bebé desencadena el reflejo de eyección de la leche mediante la liberación de oxitocina. La involución post-lactacional ocurre cuando cesa la producción de leche debido a la disminución de la prolactina, lo que provoca apoptosis masiva y remodelación del tejido mamario [12, 41].

Tabla 3. Estados del desarrollo mamario en el embarazo

| Etapas de desarrollo | Regulación hormonal | Descripción |
|---------------------------------------|--|--|
| Desarrollo durante el embarazo | Progesterona, PRL, lactógeno placentario | Formación de alvéolos; diferenciación celular parcial |
| Transición: lactogénesis. | Progesterona, PRL, glucocorticoides | Inicio de la secreción de leche |
| Lactancia | PRL, oxitocina | Secreción continua de leche, eyección de leche |
| Regresión | Retirada de la prolactina | El epitelio alveolar sufre apoptosis y remodelación, la glándula vuelve a el estado pregestacional |

Fragmento de tabla obtenida de [40]

1.4.1 Hipogalactia

La hipogalactia es un síndrome que se manifiesta cuando la madre no produce suficiente leche materna para cubrir las necesidades nutricionales y de crecimiento del bebé. A nivel global, el 50% de las mujeres optan por dejar de amamantar y recurrir a fórmulas lácteas argumentando que no tienen suficiente leche [41].

La producción adecuada de leche materna requiere un tejido mamario funcional, vías ductales y neurológicas operativas, y concentraciones apropiadas de hormonas como estrógeno, prolactina, progesterona, oxitocina, hormona del crecimiento, glucocorticoides e insulina. Aproximadamente el 5% de las madres pueden enfrentar una incapacidad primaria para lactar debido a un tejido glandular insuficiente que puede resultar de mamas hipoplásicas, cirugía mamaria (como mastectomía, reducción mamaria o extracción de quistes), o el estrés agudo. Además, el regreso temprano al trabajo o a la escuela durante las primeras 4 semanas después del parto puede interferir con el ritmo de producción de leche de la madre [41, 43].

En México, según datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2018-19, la principal razón por la cual las mujeres mexicanas dejan de amamantar es la insuficiencia de leche (Figura 4).

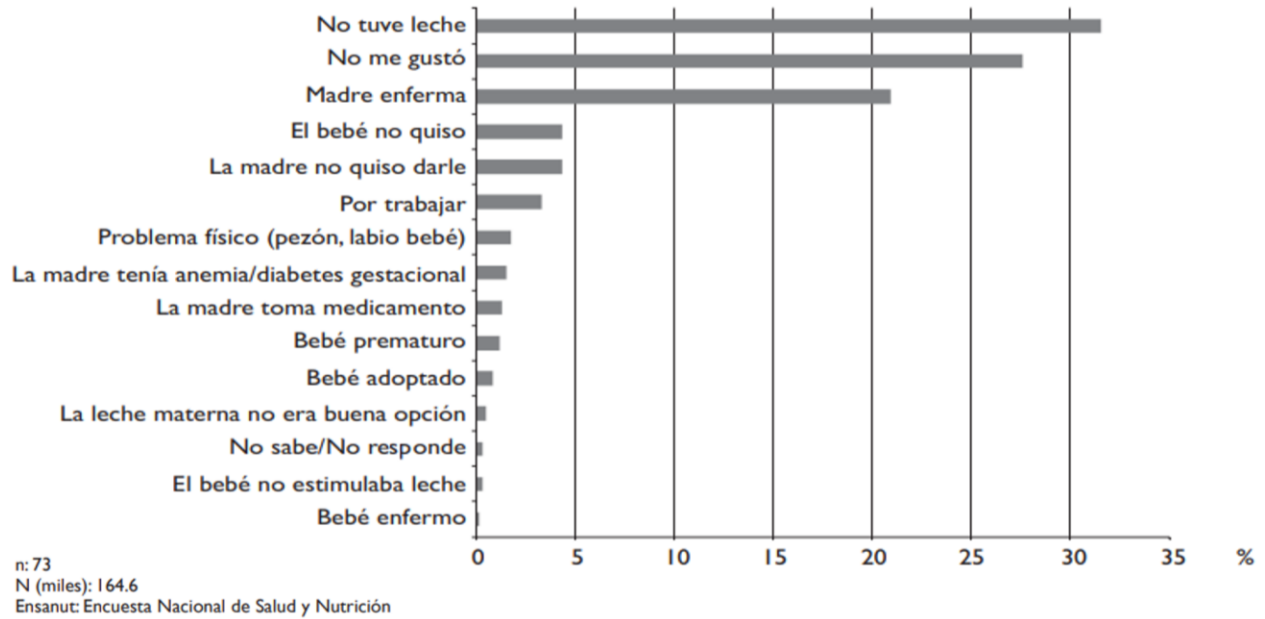


Figura 4. Motivos para nunca amamantar. Mujeres de 12 a 59 años, madres de niños menores de 24 meses [5].

1.4.2 Receptor de dopamina

La lactancia materna está regulada por un complejo sistema hormonal, donde el hipotálamo y la prolactina desempeñan roles esenciales. La producción de prolactina, una hormona clave en la lactancia, es controlada por el hipotálamo a través de factores inhibidores como la dopamina y factores liberadores (PRF). La dopamina actúa como el principal inhibidor, disminuyendo los niveles de prolactina y afectando negativamente la producción de leche. Sin embargo, estímulos externos como la succión del lactante pueden inhibir la liberación de dopamina, lo que eleva los niveles de prolactina y, en consecuencia, mejora la producción de leche. Además, antagonistas dopaminérgicos como la domperidona aumentan la prolactina al inhibir la dopamina reforzando la lactancia [41, 44]. La Figura 5 proporciona una visión general de los factores endógenos y exógenos que influyen en la prolactina, y se destacan los mecanismos de acción de los galactagogos farmacéuticos más comunes.

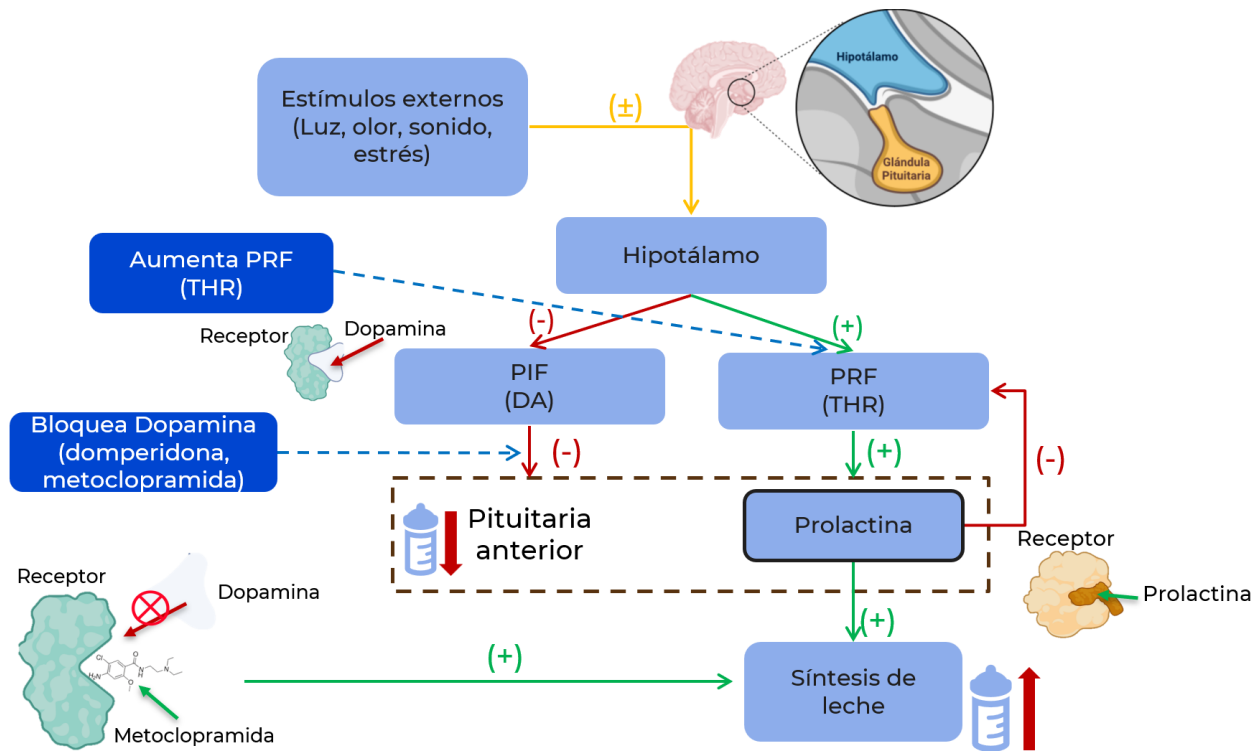


Figura 5. Regulación de la prolactina en la lactancia y mecanismo de acción de los galactagogos. **THR**, hormona liberadora de tirotropina; **PRF**, factor liberador de prolactina; **DA**, dopamina; **PIF**, factor inhibidor de la prolactina [43].

Por otro lado, los receptores de dopamina D2 (D2R), expresados en las células epiteliales mamarias (MECs), juegan un papel crucial en la modulación de la producción de leche y la supervivencia celular. La activación de D2R por la bromocriptina reduce los niveles intracelulares de AMPc, inhibe la síntesis de proteínas lácteas clave como la caseína y la lactoferrina, y suprime la actividad de STAT5 y los receptores de glucocorticoides (GR) (Figura 6). Además, la bromocriptina induce apoptosis en las MECs y desactiva la señalización de la ruta de las quinasas extracelulares reguladas por mitógenos (ERK), que es vital para la proliferación y supervivencia celular. En contraste, la domperidona, un antagonista de D2R, contrarresta estos efectos promoviendo la producción de leche y protegiendo a las MECs [44].

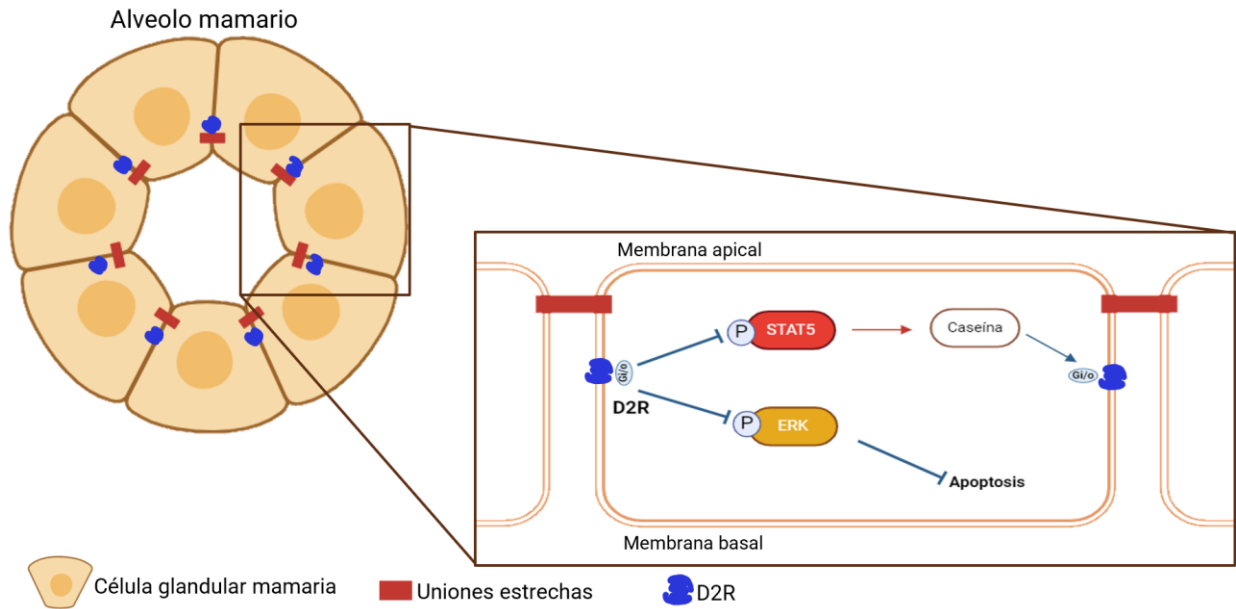


Figura 6. Diagrama de un alvéolo mamario mostrando la señalización del receptor de dopamina tipo 2 (D2R) en las células glandulares. La activación del D2R influye en la fosforilación de STAT5 y de ERK [44]. Creado con Biorender (<https://www.biorender.com>)

El equilibrio entre la dopamina y la prolactina es fundamental en la regulación de la lactancia. Los niveles elevados de prolactina favorecen la producción de leche, mientras que la dopamina actúa como un inhibidor. Antagonistas como la domperidona pueden incrementar la producción láctea. Comprender estos mecanismos es clave para mejorar la lactancia.

1.4.3 Estrógeno

El estrógeno desempeña un papel crucial en el desarrollo mamario variando su función dependiendo de la etapa de la vida. Durante la pubertad, es esencial para el crecimiento ductal en las glándulas mamarias, colaborando con la hormona del crecimiento (GH), el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y el factor de crecimiento de los hepatocitos (HGF/SF) para fomentar el desarrollo de los conductos (Figura 7) [40].

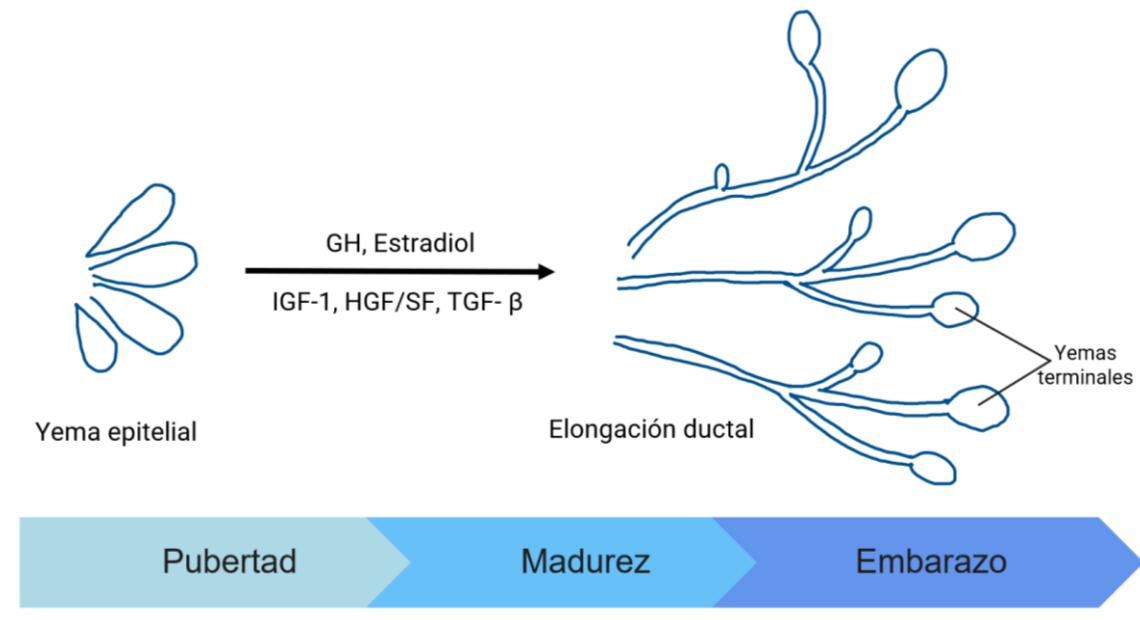


Figura 7. Esquema de la regulación de la elongación ductal en la mama durante la pubertad, la madurez y el embarazo [40].

Durante el embarazo, aunque los niveles de estrógeno son altos, su papel en el desarrollo mamario no es indispensable, sino que actúa principalmente como un potenciador de la prolactina. La progesterona, en combinación con el estrógeno, induce la formación de ductos específicos resultando en una rica ramificación de la glándula. Bajo la influencia de la prolactina se desarrollan células alveolares secretoras al final de estos ductos. Además, factores de crecimiento y la insulina estimulan la proliferación de células madre en la glándula mientras que los corticosteroides dirigen la formación de alvéolos esenciales para la producción de leche

1.5 Galactogogos

Los galactogogos son compuestos que estimulan el aumento o mantenimiento de la producción de leche materna y pueden ser sintéticos o extraídos de plantas. Entre los galactogogos más comúnmente utilizados se encuentran la metoclopramida y domperidona. Estos medicamentos que bloquean la dopamina, como los antagonistas dopaminérgicos y provocan un aumento de la secreción de prolactina [43]. A continuación, se presenta la Tabla 4 con información sobre algunos de los

galactogogos más utilizados, incluyendo sus propiedades, dosis sugeridas, duración de la terapia, efectos en la lactancia y efectos adversos.

Tabla 4. Galactogogos comúnmente usados por especialistas en lactancia para el tratamiento de la hipogalactia.

| | Domperidona | Metoclopramida | Fenogreco |
|-------------------------------------|---|---|--|
| Clase o propiedades químicas | Antagonista de la dopamina | Antagonista de la dopamina | Especia de uso común; los constituyentes activos son trigonelina, 4-hidroxiisoleucina y sotolón |
| Dosis sugerida | 10 mg, por vía oral, tres veces al día. | 10 mg, por vía oral, de tres a cuatro veces al día. | "3 cápsulas" por vía oral (típicamente 580-610 mg), de tres a cuatro veces al día; té colado, 1 taza, tres veces al día. |
| Duración de la terapia | Inicio entre la 3 y 4 semana después del parto y se administró durante 14 días | 7-14 días | 1 semana |
| Efectos en la lactancia | Aumento de la tasa de secreción de leche en madres dependientes de extractores de | Posible aumento de la tasa de secreción de leche | Pruebas insuficientes; probablemente un efecto placebo significativo |

leche

| | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|--|--|
| Efectos adversos | ▲ Boca seca | Efectos reversibles | En general, bien |
| | ▲ Dolor de cabeza | del sistema nervioso | tolerado. |
| | ▲ Calambres abdominales. | central a corto plazo incluyendo: | ▲ Diarrea |
| | ▲ Arritmias cardíacas | ▲ Ansiedad ▲ Depresión ▲ Inquietud motora ▲ Reacciones ▲ Informes raros de discinesia tardía (generalmente irreversible), lo que hace que la FDA coloque una advertencia en un recuadro sobre este medicamento | ▲ Olor corporal inusual ▲ Alergia cruzada con la familia <i>asteraceae</i> / <i>compositae</i> , cacahuete y familia <i>fabaceae</i> |

Fragmento de tabla obtenida de [45]

Los galactogogos desempeñan un papel crucial en el apoyo a la lactancia materna, especialmente en casos de producción insuficiente de leche. Sin embargo, es esencial tener en cuenta sus posibles efectos adversos. Además, es importante recordar que los galactogogos no reemplazan el impacto positivo de un manejo adecuado de la lactancia, que incluye el apoyo emocional, una correcta técnica de amamantamiento y la frecuencia de la succión, factores clave para el éxito en la producción de leche materna [46,47].

1.5.1 La soya

La soya (*Glycine max*) (Figura 9) es una planta que pertenece a las leguminosas y es originaria de Asia. En la actualidad se ha convertido en una de las leguminosas más importantes en el mundo por su gran versatilidad en la preparación de alimentos tanto de uso humano como para alimento de ganado [45, 46]. La producción de soya a nivel mundial es liderada por Estados Unidos, Brasil y Argentina con un 82% de la producción de soya a nivel mundial [44]. En México, de acuerdo con el último boletín mensual de producción de soya realizado por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), las entidades federativas que más producen soya son Campeche, Tamaulipas y Sinaloa (Figura 8) [50].

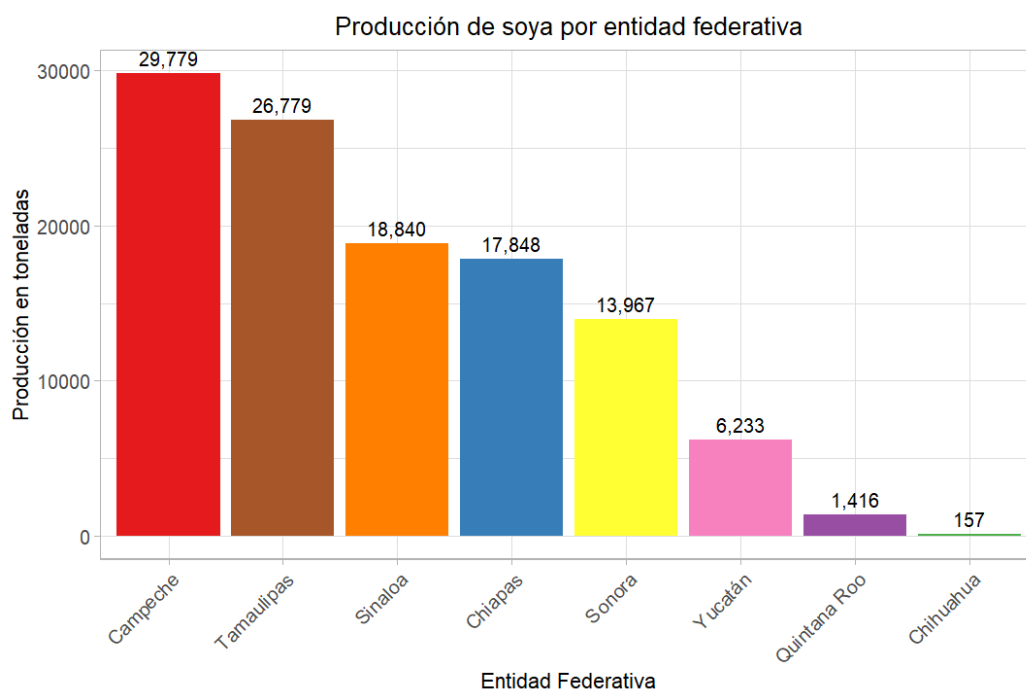


Figura 8. Producción de soya en toneladas por entidad federativa de México. Datos obtenidos de [50].

El interés por la planta y las semillas de soya se debe a la variedad de fitoquímicos que contienen, como saponinas, fitoesteroles, ácido fítico, flavonoides, péptidos, inhibidores de la proteasa y otras sustancias bioactivas, destacando a las isoflavonas. Estas últimas son reconocidas por sus potenciales beneficios, que incluyen la protección contra enfermedades cardiovasculares mediante la reducción del colesterol y la presión

arterial, así como su capacidad para prevenir el cáncer, la diabetes y la osteoporosis, y su contribución al manejo de la menopausia en mujeres [47,51].



Figura 9. Planta de soya. En los recuadros se destacan: vainas verdes en crecimiento (izquierda), vainas maduras y secas listas para la cosecha (arriba derecha) y semillas de soya ya extraídas (abajo derecha).

Esta leguminosa contiene cantidades significativas de isoflavonas, moléculas conocidas como fitoestrógenos debido a su estructura similar al estradiol. En la soya encontramos la genisteína, daidzeína y gliciteína (Figura 10) estas dos últimas representan el 30% y 60% de las isoflavonas presentes en la soya [8, 48]. Durante el proceso de metabolización por bacterias intestinales se obtiene el equol un metabolito de la daidzeína, volviéndose la isoflavona más estable y la de mayor facilidad de absorción [52].

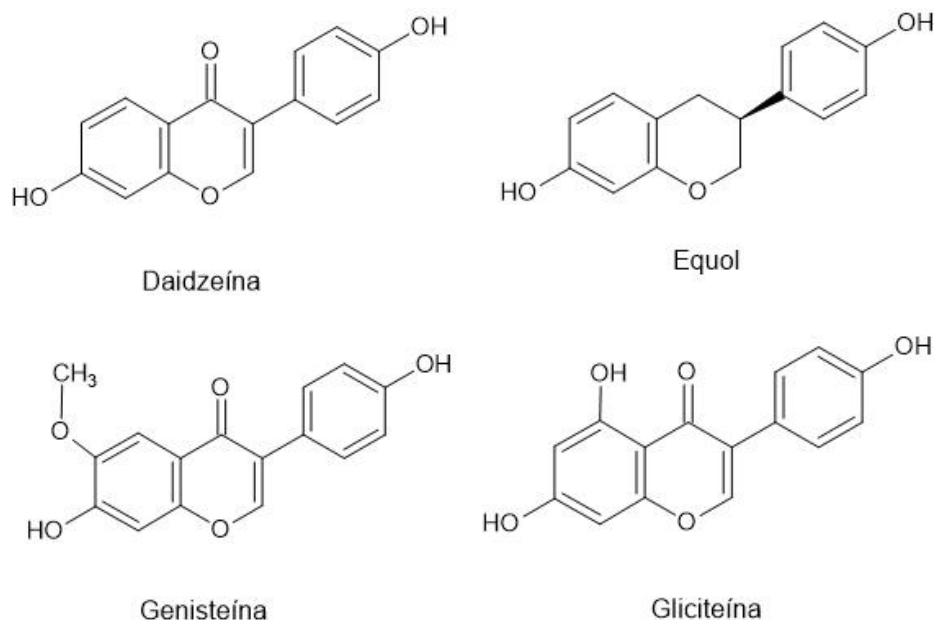


Figura 10. Isoflavonas derivadas de la soya. Estructura 2D de daidzeína, equol, genisteína y gliciteína.

Se ha visto que estas isoflavonas tienen un efecto en la regulación de la actividad estrogénica al actuar como moduladores selectivos en los receptores de estrógeno [51]. Principalmente el equol muestra una actividad estrogénica mayor en comparación con las demás isoflavonas o sus derivados [52]. Haciendo que estos compuestos se vuelvan relevantes para el estudio molecular de la interacción de estas isoflavonas con el receptor de estrógeno y de dopamina.

Capítulo 2. Marco teórico

2.1 Química computacional

Los métodos de la química computacional como la mecánica molecular, métodos *ab initio*, semiempíricos y métodos basados en la teoría del funcional de la densidad, así como las simulaciones de dinámica molecular, son útiles en el diseño de nuevos fármacos. La mecánica molecular utiliza una expresión matemática de la energía y de los parámetros geométricos de las moléculas que constituyen un campo de fuerza (*forcefield*). Se puede desarrollar la siguiente ecuación para el potencial de la energía de una molécula:

$$E = \sum_{\text{enlaces}} E_{\text{estiramiento}} + \sum_{\text{ángulos}} E_{\text{flexión}} + \sum_{\text{enlaces}} E_{\text{torsión}} + \sum_{\text{pares}} E_{\text{sin enlaces}} \quad (1)$$

donde $E_{\text{estiramiento}}$ es la contribución energética del estiramiento de los enlaces, $E_{\text{flexión}}$ la flexión de los ángulos, $E_{\text{torsión}}$ el movimiento de torsión y $E_{\text{sin enlaces}}$ las interacciones entre átomos o grupos no enlazados [53].

Los métodos *ab initio* en química cuántica resuelven la ecuación de Schrödinger usando aproximaciones sistemáticas que convergen hacia la solución exacta, sin depender de datos experimentales, salvo constantes físicas fundamentales [54], [55]. En contraste, los métodos semiempíricos simplifican los cálculos introduciendo parámetros ajustados a datos experimentales o teóricos. Aunque son menos precisos, los métodos semiempíricos son rápidos y pueden proveer propiedades clave cuando están bien calibrados [54].

Los cálculos basados en la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) derivan directamente la distribución de electrones en lugar de la función de onda, combinando eficiencia y precisión; este método es más rápido que los métodos *ab initio*, pero más lento que los métodos semiempíricos, siendo ideal para estudiar propiedades electrónicas de sistemas más complejos [53].

La simulación por dinámica molecular (MD), propuesta en los años 50 y 60, utiliza la mecánica clásica para modelar la interacción de partículas, permitiendo predecir propiedades fisicoquímicas y mecánicas de sistemas complejos [56]. Los avances en computación han permitido ampliar su aplicación en sistemas biológicos como cambios conformacionales e interacciones entre proteínas y disolventes [53].

2.1.1 Teoría funcional de la densidad

Las propiedades físicas de un sistema se pueden obtener resolviendo la ecuación de Schrödinger, lo cual se vuelve un modelo complicado de resolver computacionalmente para sistemas poliatómicos, por lo que se recurre a diferentes aproximaciones, entre ellos, los métodos basados en la teoría del funcional de la densidad (DFT) [57].

La teoría DFT se basa en la función de densidad electrónica o densidad de carga y designada por $\rho(x, y, z)$. Lo cual lo hace que por muy grande sea la molécula, la densidad electrónica seguirá siendo una función de tres variables haciéndola más intuitivamente comprensible y matemáticamente más manejable [53]. La densidad electrónica puede expresarse como la derivada funcional de la energía con respecto al potencial externo, manteniéndose constante el número de electrones:

$$p(r) = \left(\frac{\delta E}{\delta V(r)} \right)_N \quad (2)$$

Los cálculos de DFT implican la construcción de una expresión de la densidad electrónica. De forma similar a la teoría cuántica química basada en la ecuación de Schrödinger, la resolución del funcional de la densidad electrónica $\rho(r)$ para un sistema complejo [58].

El funcional híbrido B3LYP (Becke Three-Parameter Lee-Yang-Parr), combina la energía de intercambio con la energía de Hartree-Fock (HF) con términos de intercambio y correlaciones locales y no locales. Su expresión es la siguiente:

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1 - a_0)E_x^{LSDA} + a_0E_x^{HF} + a_x\Delta E_x^{B88} + a_cE_c^{LYP} + (1 - a_c)E_c^{VWN} \quad (3)$$

donde E_x^{LSDA} es el funcional de intercambio de aproximación de densidad de spin local, respectivamente, ΔE_x^{B88} es la corrección de gradiente de Becke al funcional de intercambio, E_c^{LYP} es el funcional de correlación de Lee-Yang-Parr, E_c^{VWN} el funcional de correlación local de Vosko, Wilk y Nusair y las tres constantes a_0 , a_x y a_c [59].

2.1.2. Conjunto de funciones de base

Para llevar a cabo los cálculos de estructura electrónica, es necesario emplear un conjunto adecuado de funciones base, que son combinaciones lineales de funciones matemáticas que describen los orbitales moleculares. Esta aproximación, denominada LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals), es fundamental para obtener las distribuciones electrónicas de las moléculas [60]. Siendo el conjunto de funciones de base 6-31G ampliamente utilizado, para este conjunto, los orbitales internos están representados por una única función base compuesta por la combinación lineal de seis

funciones Gaussianas primitivas, mientras que los orbitales de valencia se dividen en dos partes: una descrita por tres Gaussianas primitivas y otra por una única Gaussiana primitiva [61].

El 6-31G también permite extensiones para incluir funciones de polarización (6-31G(d) o 6-31G(d,p)) que añaden funciones Gaussianas de mayor momento angular (p para hidrógeno y d para otros átomos). Estas funciones son esenciales para modelar efectos como la polarización electrónica y enlaces múltiples. Además, se pueden incluir funciones difusas (6-31+G o 6-31++G), útiles para sistemas donde los electrones están más deslocalizados, como aniones o moléculas en fase gaseosa [62].

2.1.3. Propiedades electrónicas

2.1.3.1 Orbitales moleculares fronteras

La teoría de orbitales moleculares (MO) es un modelo basado en la mecánica cuántica que describe el comportamiento de los electrones en una molécula. En lugar de estar localizados en átomos individuales, los electrones ocupan orbitales que se extienden a través de toda la molécula. Estos orbitales moleculares se forman a partir de la combinación lineal de orbitales atómicos, como los s , p , d y f . Esta teoría permite predecir propiedades clave de las moléculas, como su estabilidad, geometría, polaridad y reactividad química [63].

Dentro de esta teoría, los orbitales moleculares fronteras (FMO), específicamente el HOMO (orbital molecular ocupado de mayor energía) y el LUMO (orbital molecular desocupado de menor energía), desempeñan un papel fundamental en la reactividad química. La interacción entre estos dos orbitales permite predecir el curso de una reacción química, ya que las regiones donde los coeficientes del HOMO y el LUMO son más grandes indican los centros más reactivos de las moléculas [64,65]. El orbital HOMO está relacionado con la capacidad de donar electrones, mientras que el orbital LUMO está relacionado con la capacidad de aceptar electrones.

2.1.3.2 Potencial electrostático molecular

El potencial electrostático molecular (MEP) es una herramienta fundamental para describir la distribución de densidad electrónica dentro de una molécula y su interacción con otras especies. Su cálculo implica tanto la contribución de las cargas nucleares de los átomos como la densidad electrónica de la molécula [64].

El MEP se calcula generalmente utilizando métodos de química cuántica como la teoría del funcional de la densidad (DFT) o métodos *ab initio*, en los cuales se obtiene una densidad electrónica que permite calcular el potencial. Sin embargo, los cálculos del MEP están sujetos a aproximaciones debido a las limitaciones en el conjunto de bases utilizado y la correlación electrónica. En los métodos *ab initio*, se puede mejorar la calidad de los resultados aumentando el tamaño del conjunto de base.

La topografía del MEP es clave para interpretar las distribuciones electrónicas de una molécula. Los puntos críticos del MEP, como los máximos y mínimos, pueden indicar regiones de alta o baja densidad electrónica, lo cual es relevante para comprender la reactividad de la molécula [66].

2.1.4 Parámetros de reactividad global

La reactividad química indica hacia donde se concentran los electrones y a donde se dirigen ayudando a predecir los sitios reactivos de la molécula. De la teoría conceptual de DFT se derivan los parámetros de reactividad global: el potencial químico (μ), la electronegatividad (χ), la dureza (η), la blandura (S) y el índice de electrofilicidad (ω).

En 1983, Parr definió el potencial químico electrónico μ como el cambio en la energía del sistema respecto al número de electrones N en un potencial externo fijo $v(r)$, creado por los núcleos. Este potencial químico está relacionado con la capacidad del sistema para intercambiar densidad electrónica con el entorno en su estado fundamental. La expresión aproximada usando diferencias finitas es:

$$\mu \approx \frac{-(I + A)}{2} \quad (4)$$

donde I y A son el potencial de ionización y la afinidad electrónica de un átomo o molécula, respectivamente. Utilizando el teorema de Koopmans y el formalismo de Kohn-Sham dentro de la teoría del funcional de la densidad (DFT), estas energías se pueden aproximar por las energías de los orbitales frontera HOMO y LUMO, con $I \approx -E_{HOMO}$ y $A \approx -E_{LUMO}$. Por lo tanto, el potencial químico electrónico μ se puede expresar como:

$$\mu \approx \frac{(E_{HOMO} + E_{LUMO})}{2} \quad (5)$$

La identificación del potencial químico electrónico μ con el negativo de la electronegatividad de Mulliken, $-\chi$, que mide la resistencia a la pérdida de densidad electrónica, ofrece un método para calcular valores de electronegatividad para átomos y moléculas.

$$\chi = -\mu \approx \frac{(I + A)}{2} \quad (6)$$

La dureza química, η , se puede considerar como la resistencia de una molécula a intercambiar densidad electrónica con el entorno. La cual se obtiene con la siguiente expresión simple:

$$\eta \approx \frac{(E_{LUMO} - E_{HOMO})}{2} \quad (7)$$

Por otro lado, la blandura química, S , se introdujo como el inverso de la dureza química η :

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (8)$$

En 1999, Parr definió el índice de electrofilicidad, ω , que mide la estabilización energética de una molécula cuando adquiere una cantidad adicional de densidad electrónica, ΔN , del entorno. El índice de electrofilicidad ω se expresa como [67]:

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (9)$$

2.2 Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular, también conocido como *molecular docking*, es el método computacional más común en el diseño de fármacos basado en estructuras y se ha utilizado ampliamente desde principios de la década de 1980. El *docking* molecular fue diseñado originalmente para realizarse entre una pequeña molécula (ligando) y una macromolécula objetivo (proteína), sin embargo, en la última década ha habido un creciente interés en el *docking* proteína-proteína y el *docking* de ácidos nucleicos (ADN y ARN) con ligandos.

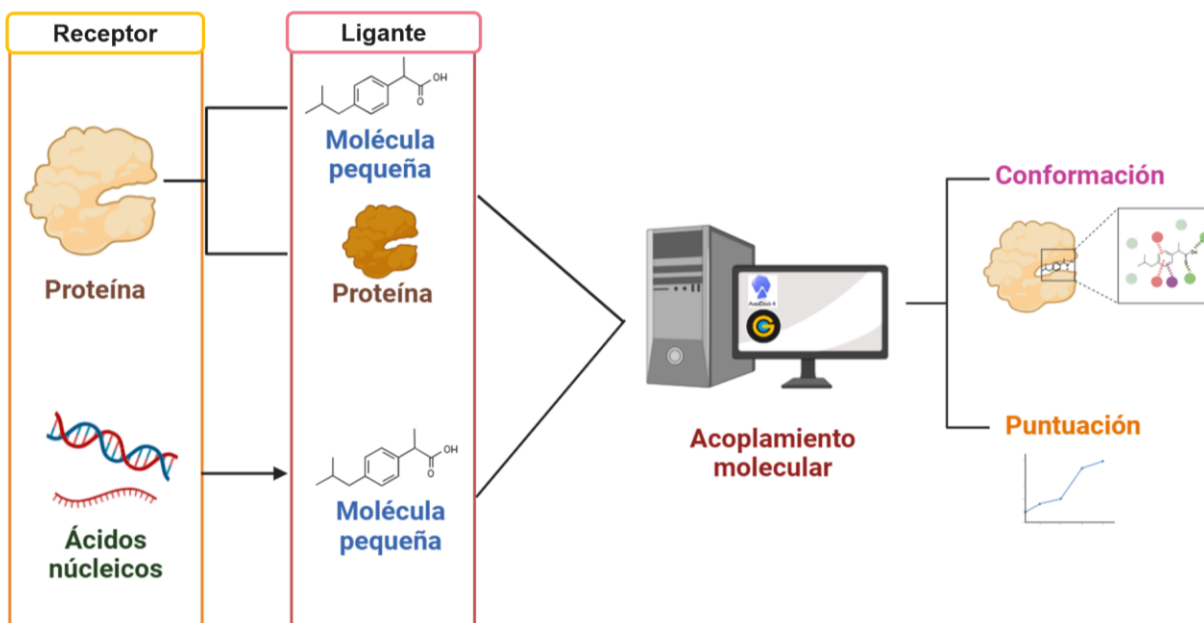


Figura 11. Esquema del proceso de acoplamiento molecular (*docking*) Creado con biorender (<https://www.biorender.com>).

El proceso de *docking* molecular implica dos pasos básicos: la predicción de la conformación del ligando (usualmente una pequeña molécula), su posición y orientación dentro del sitio de unión de la proteína (generalmente denominado pose); y la evaluación de la calidad de la pose utilizando una función de puntuación (Figura 11) [68]. En la actualidad, existen numerosos programas, tanto de libre acceso como de pago y en línea, que facilitan la realización de esta técnica. Estos programas varían en

complejidad y en las características que ofrecen permitiendo elegir la herramienta más adecuada según las necesidades específicas.

AutoDock4 y AutoDock Vina son software de código abierto y gratuitos que han sido ampliamente utilizados en la comunidad científica. Ambos ofrecen una interfaz amigable y capacidades robustas para realizar estudios de *docking*, siendo AutoDock Vina conocido por su velocidad y precisión mejoradas en comparación con AutoDock4 [57, 58]. Por otro lado, GOLD es un programa comercial que requiere licencia de pago y está relacionado con el Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC), lo que permite acceder a una amplia base de datos de estructuras cristalinas [71]. Ambas herramientas son complementarias, proporcionando un análisis exhaustivo de las interacciones moleculares.

2.2.1 AutoDock

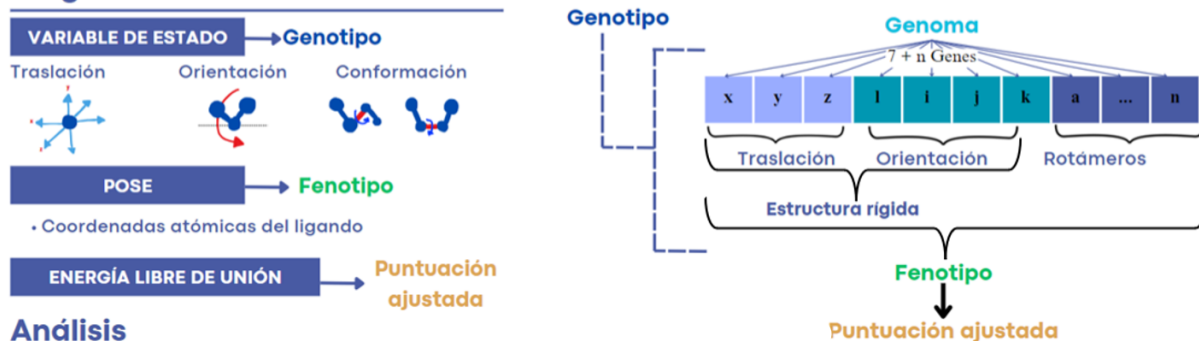
AutoDock 4.2 emplea un algoritmo genético Lamarckiano para buscar conformaciones durante simulaciones de docking (Figura 12), complementado con métodos de búsqueda de recocido simulado y algoritmos genéticos tradicionales. Este enfoque se basa en la evolución biológica, donde una población inicial de conformaciones de prueba mutua intercambia parámetros y compete seleccionando aquellas con la menor energía de unión. El algoritmo "Lamarckiano" permite a las conformaciones individuales buscar mínimos locales en su espacio conformacional, pasando esta información a generaciones posteriores.

Los algoritmos genéticos en el docking molecular definen el estado del ligando utilizando valores que describen su traslación, orientación y conformación en relación con la proteína. Estos valores se corresponden con los genes en el algoritmo genético (GA), donde el estado del ligando se mapea al genotipo y sus coordenadas atómicas al fenotipo. La aptitud se refiere a la capacidad de un ligando para unirse favorablemente a una proteína objetivo. Esta se evalúa mediante la energía total de interacción entre ambos, calculada a través de una función energética específica. Los individuos del algoritmo, que representan diferentes configuraciones del ligando, se cruzan y mutan

aleatoriamente, seleccionando aquellos con mayor aptitud para reproducirse y generar nuevas generaciones de soluciones [59, 61].

Algoritmo genético: Lamarckiano

El ligante



Análisis

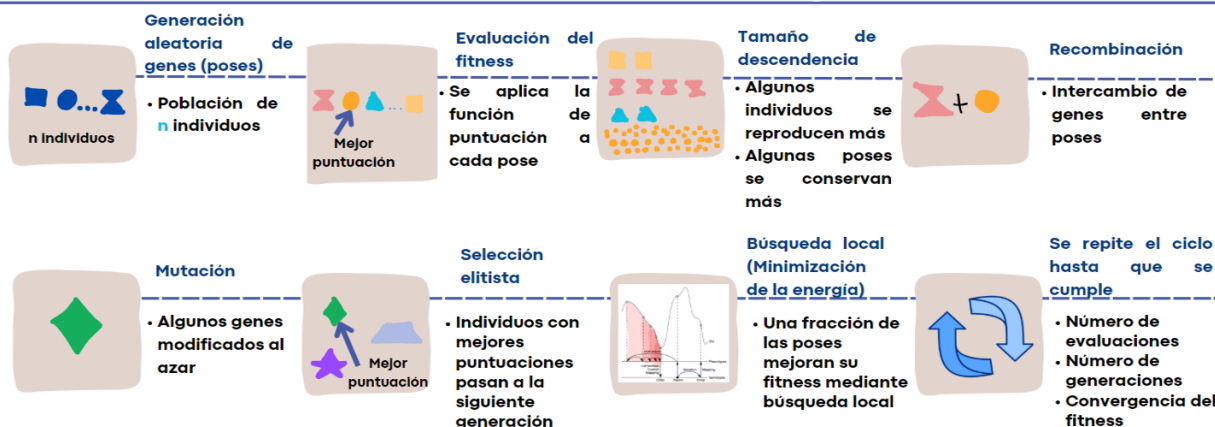


Figura 12. Infografía del funcionamiento del algoritmo genético Lamarckiano [70]. Elaboración propia.

El campo de fuerza de AutoDock 4.2 (AD4) evalúa las energías de unión en dos etapas fundamentales:

- 1) Estimación de Energías Intramoleculares: Se calcula la energía requerida para que los componentes no enlazados (ligando y proteína) se unan. Esto implica analizar cómo las interacciones intramoleculares, como puentes de hidrógeno, se ven afectadas al pasar de un estado no enlazado a uno enlazado.
- 2) Evaluación de Energías Intermoleculares: Una vez que se establece la conformación enlazada, se evalúan las energías de interacción entre el ligando y la proteína. Esto incluye los términos energéticos como dispersión/repulsión, enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas y solvatación. Estos términos

han sido calibrados utilizando constantes de unión experimentales y se basan en parámetros del campo de fuerza Amber.

La energía libre de Gibbs (ΔG) se calcula considerando todos estos términos y se expresa con la siguiente ecuación:

$$\Delta G = (V_{enlace}^{L-L} - V_{sin\ enlace}^{L-L}) + (V_{enlace}^{P-P} - V_{sin\ enlace}^{P-P}) + (V_{enlace}^{P-L} - V_{sin\ enlace}^{P-L} - \Delta S_{conf}) \quad (10)$$

donde:

L = Representa al ligando

P = Representa a la proteína

V_{enlace} = Energía de enlace

V_{sin enlace} = Energía sin enlace

ΔS_{conf} = Entropía asociada a los cambios de conformación

Esta ecuación permite calcular la energía de Gibbs (ΔG) del sistema, teniendo en cuenta tanto las energías intramoleculares como las energías de interacción en el complejo ligando-proteína. En el contexto del docking molecular, ΔG es un parámetro crucial para evaluar la estabilidad y la afinidad de unión del complejo. Un valor negativo de ΔG sugiere que el proceso de unión es espontáneo y termodinámicamente favorable. Cuanto más negativo sea ΔG , mayor será la probabilidad de que la interacción ocurra de forma preferencial, dado que el sistema tiende a adoptar configuraciones de menor energía [70].

Un programa derivado de AD4 es AutoDock Vina (ADV), el cual es un programa avanzado para realizar docking molecular y cribado virtual, con la ventaja de obtener resultados a una velocidad significativamente mayor que AutoDock 4 además de mejorar la precisión en la predicción de modos de unión. La función de puntuación de ADV considera tanto las contribuciones intermoleculares como intramoleculares. La forma funcional general de la parte dependiente de la conformación de la función de puntuación es:

$$c = \sum_{i < j} f_{t_i t_j}(r_{ij}) \quad (11)$$

donde la suma es sobre todos los pares de átomos que pueden moverse entre sí, excluyendo normalmente las interacciones 1-4 (átomos separados por tres enlaces covalentes consecutivos). Aquí, a cada átomo i es asignado a un tipo t_i , y se define un conjunto simétrico de funciones de interacción $f_{t_i t_j}$ de la distancia interatómica r_{ij} . Este valor se puede ver como una suma de contribuciones intermoleculares e intramoleculares [69]:

$$c = c_{inter} + c_{intra} \quad (12)$$

La función de puntuación de ADV se basa en un enfoque energético que combina varias contribuciones para evaluar la calidad de las interacciones entre un ligando y un receptor. Las interacciones consideradas incluyen:

Interacciones de Van der Waals: Fuerzas de atracción entre moléculas debido a la formación de dipolos temporales que contribuyen a la estabilidad molecular.

Interacciones de puente de Hidrógeno: Atracciones entre un átomo de hidrógeno unido a un átomo electronegativo y otro átomo electronegativo, importantes para la estructura de biomoléculas.

Interacciones Hidrofóbicas: Fuerzas que hacen que las moléculas no polares se agrupen en un entorno acuoso para minimizar el contacto con el agua, esenciales para el plegamiento de proteínas.

Penalización por Entropía Conformacional: Refleja la reducción de libertad de movimiento del ligando al unirse a su receptor afectando la estabilidad del complejo.

Sin embargo, a diferencia de AutoDock 4, ADV carece de consideraciones sobre electrostática y solvatación, utilizando en su lugar un potencial similar al de Van der Waals que se define mediante una combinación de un término de repulsión y dos gaussianas atractivas.

2.2.2 GOLD

GOLD (Genetic Optimisation for Ligand Docking) es un algoritmo genético diseñado específicamente para acoplar ligandos flexibles en sitios de unión de proteínas. Una de las características destacadas de GOLD es su capacidad para elegir entre varias funciones de puntuación, como ChemScore, el Potencial Estadístico de Astex (ASP) y el Potencial Lineal por Partes (ChemPLP).

Una de las características más relevantes de GOLD es su función de puntuación, GoldScore, que evalúa la interacción entre ligandos y proteínas mediante la combinación de varios componentes energéticos. La función de puntuación se define como:

$$GOLD\ Fitness = S_{hb_ext} + S_{vdw_ext} + S_{hb_int} + S_{vdw_int} \quad (13)$$

donde:

- S_{hb_ext} es la puntuación de enlaces de hidrógeno entre la proteína y el ligando.
- S_{vdw_ext} es la puntuación de las interacciones Van der Waals entre la proteína y el ligando.
- S_{hb_int} es la contribución de los enlaces de hidrógeno intramoleculares en el ligando.
- S_{vdw_int} es la puntuación de las interacciones Van der Waals internas del ligando.

La puntuación de GOLDScore (también llamada GOLD *fitness*) se calcula como el negativo de la suma de los términos de energía, lo que implica que mientras más altas sean las puntuaciones son mejores. Esta función de puntaje está optimizada para predecir las posiciones de unión de los ligandos en lugar de centrarse exclusivamente en la predicción de afinidades de unión. Sin embargo, a pesar de su enfoque primario, se ha encontrado una cierta correlación con las afinidades de unión, lo que sugiere que las puntuaciones de GOLD pueden ser útiles en estudios de selectividad y eficacia de los ligandos.

GOLD se ha establecido como una herramienta valiosa en la investigación de interacciones biomoleculares, ofreciendo un equilibrio entre precisión y eficiencia en el acoplamiento de ligandos flexibles. Su enfoque basado en algoritmos genéticos y su robusta función de puntuación lo convierten en una opción preferida en el ámbito del cribado virtual y el diseño de fármacos [71].

Capítulo 3. Planteamiento del problema, Hipótesis y Objetivos

3.1 Planteamiento del problema

La hipogalactia es un padecimiento que afecta negativamente a las madres y, en especial, a los bebés que dependen de la leche materna. Esta condición, presente tanto a nivel mundial como en México, tiene serias implicaciones para la salud de los infantes y las madres, así como para la economía de las familias y la sociedad en general [4, 5]. Por ello, es fundamental desarrollar e implementar soluciones efectivas.

En este contexto, los galactogogos son los tratamientos actuales para la hipogalactia, sin embargo, presentan varias limitaciones. Por un lado, existen pocas alternativas disponibles, y la falta de evidencia científica robusta, especialmente en el caso de los galactogogos naturales, dificulta su recomendación [40]. Por otro lado, los posibles efectos secundarios representan un riesgo adicional para las madres. Estas carencias resaltan la importancia de realizar un análisis más profundo de los compuestos presentes en los galactogogos herbales para explorar su potencial terapéutico.

En este estudio, nos centramos específicamente en las isoflavonas presentes en la soya, debido a su posible papel en la producción de leche. La evidencia sugiere que algunos de estos compuestos interactúan con los receptores de estrógeno, cuya activación es clave para la proliferación del tejido mamario [51]. Sin embargo, aún falta investigar cómo las isoflavonas de soya modulan estos receptores en el contexto de la lactancia. Además, el receptor de dopamina inhibe la secreción de prolactina, una hormona fundamental en el proceso de lactancia [11]. Por lo tanto, explorar cómo las

isoflavonas podrían actuar como agonistas del receptor de estrógeno y antagonistas del receptor de dopamina ofrece un prometedor enfoque para tratar la hipogalactia.

3.2 Hipótesis

Mediante el uso de técnicas computacionales se analizarán propiedades químicas, de reactividad y de acoplamiento molecular de las isoflavonas presentes en la soya para identificar la capacidad de interactuar con los receptores de estrógeno y dopamina. Las interacciones que se presenten serán de utilidad para proponerlos como activadores del receptor de estrógeno e inhibidores del receptor de dopamina.

3.3 Objetivo General

Investigar a nivel teórico-molecular la interacción de algunas isoflavonas extraídas de la soya con los receptores de estrógeno y dopamina utilizando técnicas de química y biología computacional, con el fin de evaluar su potencial para activar los receptores de estrógeno e inhibir los receptores de dopamina.

3.4 Objetivos Específicos

1. Calcular las estructuras moleculares optimizadas mediante cálculos basados en la teoría del funcional de densidad (DFT).
2. Analizar las propiedades de reactividad química de las isoflavonas utilizando los mapas de los orbitales frontera, los mapas de potencial electrostático y los descriptores de reactividad química global.
3. Realizar cálculos de acoplamiento molecular de las isoflavonas optimizadas con los receptores de estrógeno y de dopamina calculando la energía de afinidad y el tipo de interacciones entre ellos.
4. Identificar las estructuras de las isoflavonas más prometedoras como activadores del receptor de dopamina o inhibidores del receptor de estrógeno.

Capítulo 4. Metodología

4.1 Optimización estructural de las Isoflavonas

Una vez seleccionadas las isoflavonas con las cuales trabajar, se procedió a buscar cada una de éstas en primera instancia en la base de datos de *The Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC, <https://www.ccdc.cam.ac.uk>), la cual es una base de datos donde encontramos estructuras moleculares determinadas experimentalmente mediante difracción de rayos X de monocristal, la cual se ha convertido en el principal repositorio de estructuras de compuestos orgánicos y, complejos organometálicos y de coordinación. En ella encontramos tres de las cuatro isoflavonas que se seleccionaron conocidas como **daidzeína**, **equol** y **genisteína** con ID **1561888**, **257343** y **1165997**, respectivamente [73 - 75]

Una vez descargadas, se eliminan, en caso de existir, artefactos o duplicados en el programa Mercury [76] y se guardan en un formato pdb.

La cuarta isoflavona, **gliciteína** (CID 5317750) [77], no tiene resuelta su estructura cristalizada, por lo que se procedió a buscar en la base de datos *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), una base de datos de moléculas químicas en dos y/o en tres dimensiones y sus actividades en ensayos biológicos.

Una vez teniendo esta molécula completamos las estructuras necesarias y se procede a optimizar la geometría de cada una de ellas. Para ello se utilizó el programa Gaussian 16 [78], con un nivel de cálculo basado en la teoría DFT con el funcional híbrido B3LYP [58], [59] y un conjunto de funciones de base 6-31G [60]. De los resultados obtenidos se generó una segunda optimización más exhaustiva incluyendo una función difusa y una polarizada con el conjunto de funciones de base 6-31+G(d) [79].

4.2 Propiedades electrónicas y parámetros de reactividad química global

Las isosuperficies de los orbitales moleculares frontera se graficaron a partir de las estructuras moleculares optimizadas a un nivel de teoría B3LYP/6-31+G(d) con un

isovalor de 0.02 u.a. Además, también se mapeó el potencial electrostático molecular sobre la densidad electrónica total con un isovalor de 0.04 u.a. Estas isosuperficies se realizaron utilizando el software GaussView 6.0 [80]. Se obtuvieron los descriptores de reactividad global a partir de las energías obtenidas de los orbitales frontera HOMO y LUMO, utilizando las ecuaciones (4)-(9).

4.3 Selección de receptores

La selección de los receptores cristalizados de estrógeno y dopamina se realizó mediante consulta en la base de datos *Protein Data Bank* (PDB, <https://www.rcsb.org>). Se eligieron las estructuras con los códigos PDB: 1ERE y 6CM4 para los receptores de estrógeno y dopamina, respectivamente [81], [82]. El receptor de estrógeno está cristalizado con dos moléculas de estradiol, su ligando natural, mientras que el receptor de dopamina tiene risperidona, un antagonista de este receptor. Esta elección nos permite establecer una comparación entre la actividad de estos compuestos y las isoflavonas seleccionadas de la soya.

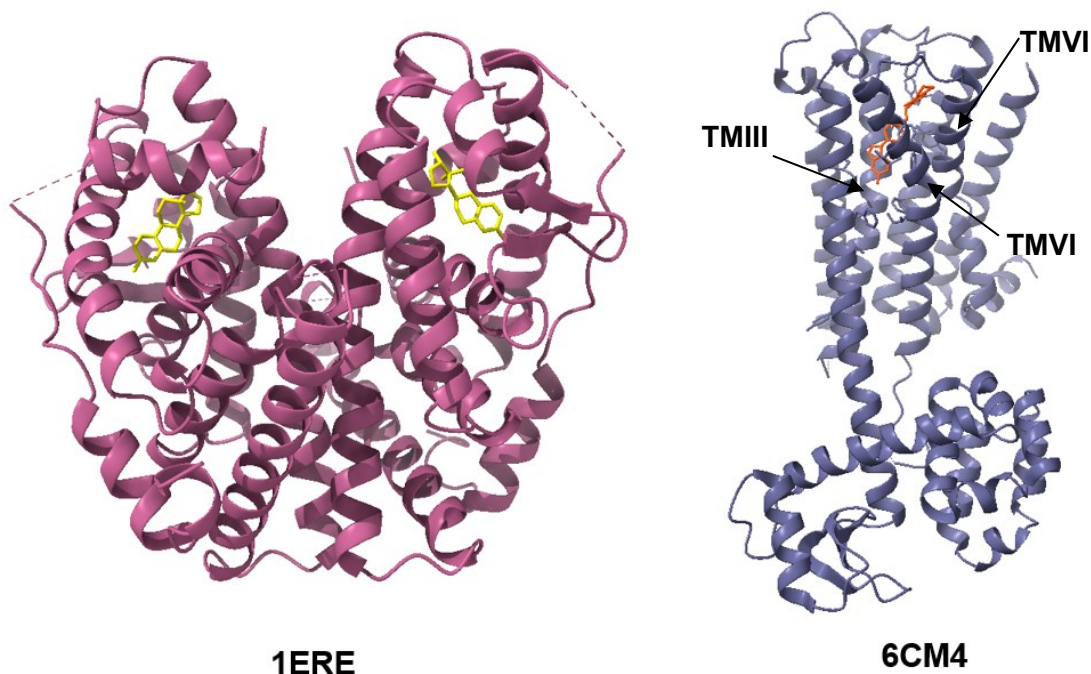


Figura 13. Receptor de estrógeno y de dopamina. Del lado izquierdo se muestra en rosa la estructura molecular del receptor de estrógeno- α (PDB ID: 1ERE) en complejo con la molécula de estradiol en color amarillo. Del lado derecho, se presenta la estructura molecular del receptor de dopamina D2 (PDB ID:

6CM4) en complejo con la molécula de risperidona en color naranja y señalado las hélices TMIII, TMV y TMVI.

El receptor de estrógeno (ER) mostrado en la Figura 13, es una proteína que actúa como factor de transcripción y se estructura en varias subunidades que facilitan su interacción con ligandos y ADN. A nivel estructural, el ER presenta tres dominios principales: el dominio de unión a ADN (DBD), el dominio de unión al ligando (LBD) y un dominio de activación transcripcional (AF).

El dominio de unión al ligando (LBD) está constituido por 12 hélices α que forman una cavidad donde se une el ligando, como el 17β -estradiol (E2). En este sitio activo, los residuos de aminoácidos clave como Leu384, Glu353 y Met387 son fundamentales para la estabilización del ligando, mientras que Phe404 y Arg394 participan en la modulación de la respuesta al ligando. El LBD también contiene un bucle que se ajusta para cambiar la conformación del receptor al unirse al estrógeno activando la capacidad transcripcional del receptor [62,63].

Por otro lado, el receptor de dopamina D2 (DRD2) (Figura 13) tiene una estructura compleja formada por siete hélices transmembrana (TM) que atraviesan la membrana plasmática. Su estructura secundaria está principalmente compuesta por hélices α que se organizan para interactuar con los lípidos de la membrana y con los residuos hidrofílicos hacia el interior y exterior celular.

A nivel terciario, el DRD2 forma una cavidad profunda entre las hélices TMIII, TMV y TMVI, donde se une la dopamina. Residuos como Cys118, Thr119, Ser197, Phe198, Phe382, Phe390 y Trp386 están involucrados en esta interacción [64,65].

4.4 Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular, conocido como *molecular docking*, es una técnica ampliamente utilizada para predecir los modos de unión entre ligandos y proteínas con el objetivo de generar información útil para el estudio y diseño de compuestos terapéuticos. Esta técnica nos permitirá comprender el modo de interacción de las isoflavonas presentes en la soya con los receptores de estrógeno y prolactina.

4.4.1 Preparación de receptores y archivos

Se utilizó el software UCSF Chimera 1.16 para eliminar todas las moléculas no peptídicas, los ligandos cristalizados y las moléculas de agua. Para validar la metodología utilizada, se extrajeron las moléculas de los receptores cristalizados necesarias para realizar un *re-docking* con los ligandos co-cristalizados y tomar los resultados como un parámetro de referencia.

Se utilizó AutoDockTools 1.5.7 como herramienta para generar los archivos necesarios para el acoplamiento en AutoDock Vina (ADV) y AutoDock 4 (AD4). A los receptores se les añadieron hidrógenos polares y se les asignaron cargas de Kollman. A todos los ligandos (estradiol, la risperidona y las isoflavonas) se les añadieron las cargas de Gasteiger y se eliminaron las torsiones para realizar un docking rígido. Posteriormente, los ligandos se prepararon con todos los enlaces rotables libres para realizar un docking semiflexible.

Para la realización del acoplamiento en GOLD, se utilizó el programa MOE para obtener los archivos en el formato adecuado de los receptores y ligandos para el acoplamiento.

4.4.2 Parámetros del acoplamiento

AutoDock Vina: Se realizó el docking en AutoDock Vina 1.1.2 buscando exhaustivamente 9 poses, estando flexibles el estradiol (control para el receptor de estrógeno) como para las isoflavonas. Se utilizó una caja de búsqueda que cubre completamente la proteína para realizar un docking ciego.

AutoDock 4: Se generó una búsqueda exhaustiva de 10 poses configurando los ligandos como flexibles, para la risperidona (antagonista de la dopamina) y las otras isoflavonas. Se utilizó una caja de búsqueda dirigida con las coordenadas.

GOLD: La configuración del ligando se generó con todas las torsiones libres y la proteína rígida. Se empleó la función de puntuación GoldScore mencionada anteriormente para todos los ligandos usados.

4.4.3 Visualización y Análisis

La visualización, el análisis y la comparación de los resultados se realizaron utilizando BIOVIA Discovery Studio v21.1.0.20298 y el programa PyMOL 2.6.

Capítulo 5. Resultados y discusión

5.1 Estructura molecular y propiedades electrónicas

A continuación, se muestran las estructuras moleculares de las isoflavonas optimizadas en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G(d) (Figura 14).

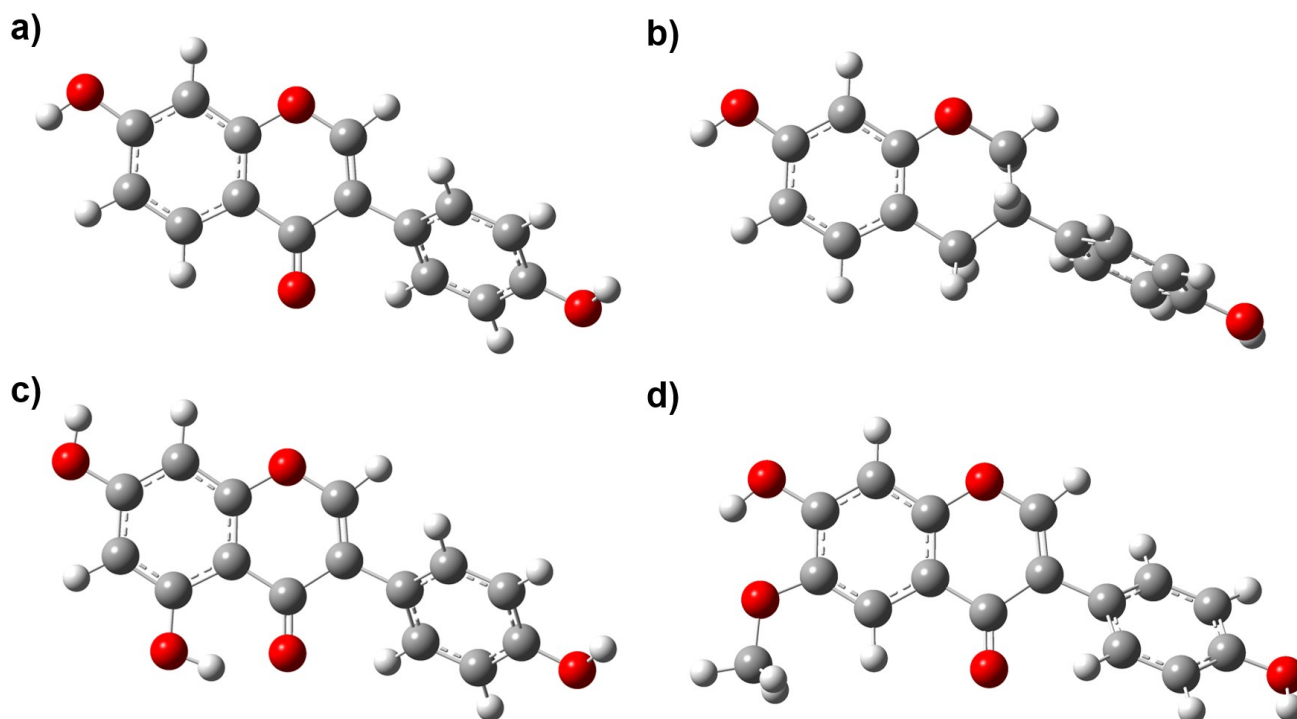


Figura 14. Estructuras optimizadas de las isoflavonas, a) daidzeína, b) equol, c) genisteína y d) gliciteína.

La Tabla 5 presenta las energías absolutas y relativas de las isoflavonas calculadas utilizando el funcional B3LYP con los conjuntos de base 6-31G y 6-31+G(d). Se

observa que la gliciteína presenta la energía más baja en ambos métodos indicando que es la molécula más estable y el daidzeína la molécula menos estable.

Tabla 5. Energías absolutas (u.a.) y relativas (kcal/mol) de las isoflavonas en estudio.

| Molécula | B3LYP/6-31G | B3LYP/6-31+G(d) | Energía relativa |
|------------|-------------|-----------------|------------------|
| Genisteína | -953.46185 | -953.770756 | 193.84 |
| Daidzeína | -878.25689 | -878.535466 | 174.81 |
| Equol | -805.470474 | -805.718788 | 155.82 |
| Gliciteína | -992.745701 | -993.065705 | 200.80 |

En general se observa que las energías electrónicas totales son menores en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G(d) por más de 150 kcal/mol respecto a los resultados obtenidos en el nivel de teoría B3LYP/6-31G, esto se debe a que el conjunto de funciones de base 6-31+G(d) es más robusto al contener una función difusa y una función de polarización.

5.1.2 Orbitales moleculares

Las energías de los orbitales frontera (HOMO y LUMO) y la energía gap indican la estabilidad y reactividad de las moléculas. En la Tabla 6, se observa que en general los valores obtenidos para ambos orbitales HOMO y LUMO son ligeramente más bajos en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G(d) respecto al nivel de teoría B3LYP/6-31G. En ambos casos, se observa que el equol tiene la energía HOMO más alta, lo que la convierte en el mejor donador de electrones del grupo, mientras que genisteína se destaca como el mejor aceptor de electrones debido a su menor energía LUMO.

Tabla 6. Energías de los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO (eV) y energía gap de las isoflavonas en estudio.

| Molécula | B3LYP/6-31G | | |
|------------|--------------|--------------|-------------|
| | Energía HOMO | Energía LUMO | Energía GAP |
| Genisteína | -5.9357 | -1.8885 | 4.05 |
| Daidzeína | -5.8015 | -1.6727 | 4.13 |

| Equol | -5.7014 | -0.2675 | 5.43 |
|------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| Gliciteína | -5.7403 | -1.5938 | 4.15 |
| B3LYP/6-31+G(d) | | | |
| Molécula | Energía HOMO | Energía LUMO | Energía GAP |
| Genisteína | -6.1101 | -1.9035 | 4.21 |
| Daidzeína | -6.0149 | -1.7973 | 4.22 |
| Equol | -5.8946 | -0.6697 | 5.22 |
| Gliciteína | -5.9359 | -1.6868 | 4.25 |

La energía gap entre HOMO y LUMO es una medida de la estabilidad y reactividad química. Las moléculas con energía gap más pequeña son más reactivas químicamente. La energía gap más alta se encuentra en la molécula de equol, lo que la hace la más estable dentro de este conjunto de isoflavonas, mientras la genisteína es la más reactiva al presentar una energía gap menor.

Las isosuperficies de los orbitales moleculares HOMO y LUMO muestran los átomos que más contribuyen a las regiones de la molécula donadoras de electrones, en el caso del orbital HOMO, y los átomos que más contribuyen a las regionesceptoras de electrones, en el caso del orbital LUMO. En las Figuras 15 y 16 respectivamente se muestran las isosuperficies de los orbitales moleculares HOMO y LUMO de las isoflavonas estudiadas.

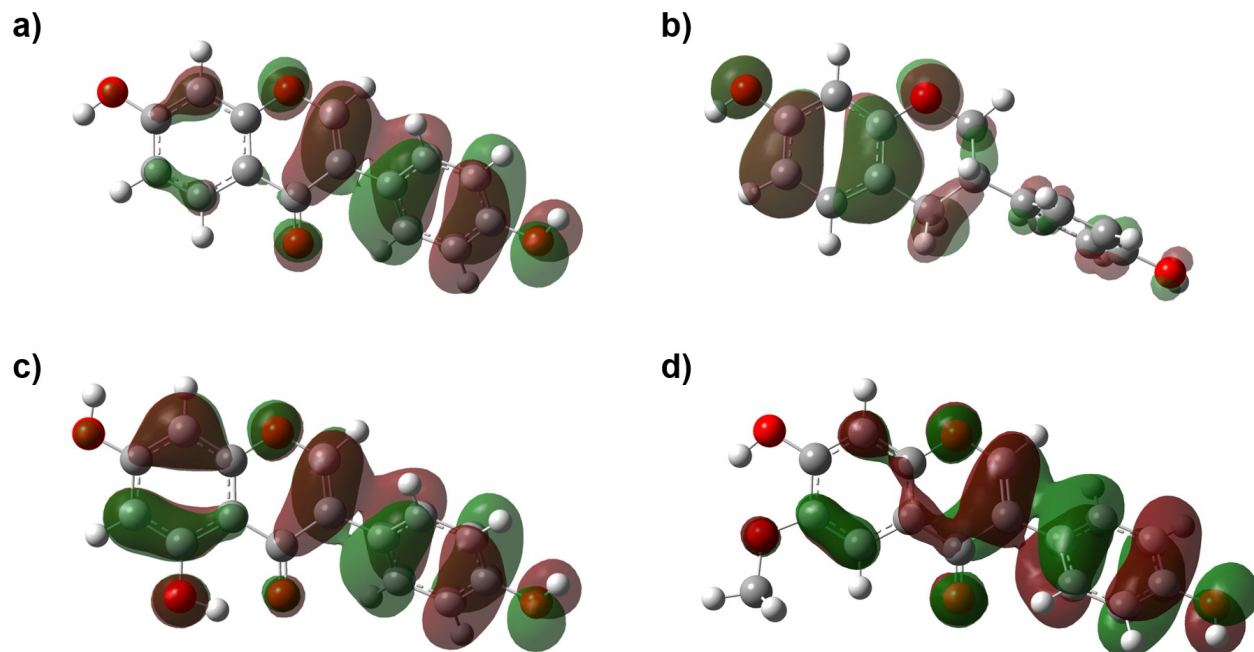


Figura 15. Orbitales moleculares frontera HOMO. Estructura de a) daidzeína, b) equol, c) genisteína y d) gliciteína.

En el caso de la genisteína, el orbital HOMO se distribuye prácticamente en toda la molécula, mientras que el orbital LUMO se concentra principalmente en los anillos dihidroxi. En la daidzeína se tiene una distribución similar a la genisteína, presentando diferencias en la distribución debido a la falta del grupo hidroxilo en la posición 5, el HOMO se localiza principalmente en el anillo hidroxifenil, extendiéndose hasta los anillos hidroxil y benzopirona, mientras que el LUMO se encuentra en los anillos hidroxil y benzopirona. En el equol, el HOMO se sitúa principalmente en los anillos benzopirona e hidroxil, con una presencia limitada en el anillo hidroxifenil, mientras que el LUMO se encuentra principalmente en el anillo hidroxil. Por último, en la gliciteína, con un grupo metoxi, tiene sus orbitales HOMO y LUMO afectando su reactividad, los orbitales HOMO se distribuyen en los anillos hidroxil y metoxi, mientras que el LUMO se encuentra únicamente en los anillos hidroxil y metoxi.

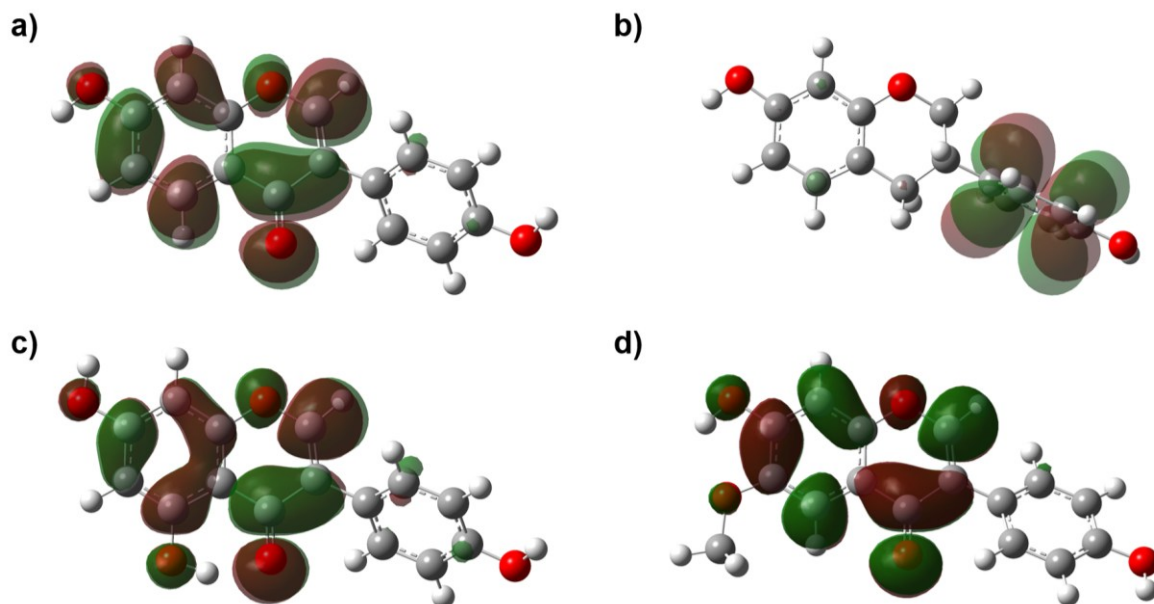


Figura 16. Orbitales moleculares frontera LUMO. Estructura de a) daidzeína, b) equol, c) genisteína y d) gliciteína.

5.1.3 Mapas de potencial electrostático

En los mapas de potencial electrostático molecular (MEP) de las isoflavonas, mostrados en la Figura 17, se observan regiones de diferente densidad electrónica que reflejan su reactividad química. Las zonas rojas, presentes alrededor de los grupos hidroxilo, indican áreas nucleofílicas con alta densidad electrónica, lo que las hace propensas a ataques electrofílicos. Por otro lado, las zonas azules, que representan regiones electrofílicas con baja densidad electrónica, señalan los puntos más susceptibles a ataques nucleofílicos.

Además, las zonas amarillas y verdes, que aparecen principalmente en los anillos aromáticos, reflejan áreas de densidad electrónica intermedia, donde pueden ocurrir interacciones no-covalentes. En conjunto, los mapas del potencial electrostático molecular de la Figura 17 muestran que la mayor densidad electrónica se localiza consistentemente en los grupos carbonilo de todas las moléculas, mientras que las zonas con más deficiencia de densidad electrónica son los átomos de hidrógeno de los grupos hidroxilo, mientras que en los anillos aromáticos se observa una densidad intermedia.

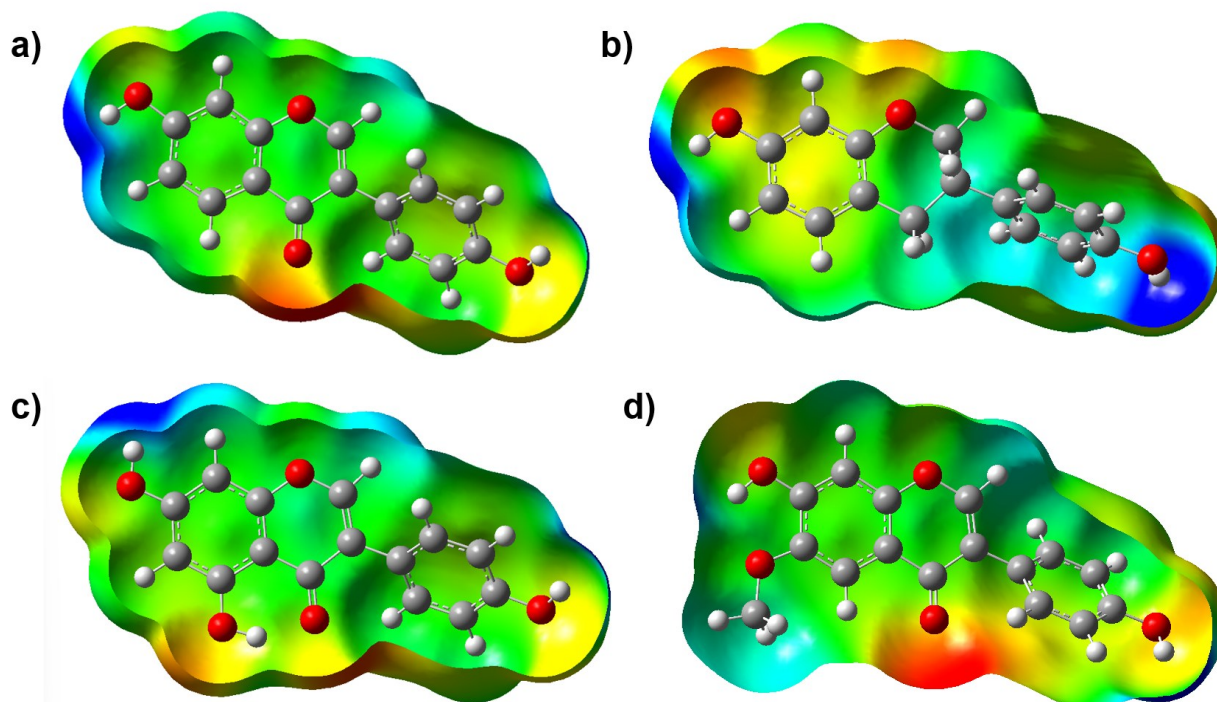


Figura 17. Mapas de potencial electrostático. Estructura de a) daidzeína, b) equol, c) genisteína y d) gliciteína.

Las diferencias en los grupos funcionales y sus posiciones en las moléculas explican las variaciones en sus parámetros de reactividad. La reactividad química es influenciada por la densidad electrónica y la deslocalización de carga que los diferentes grupos funcionales aportan. La estabilidad electrónica se refleja en la energía gap entre el HOMO y el LUMO, siendo un indicador de la reactividad. Las interacciones biológicas de estas moléculas también se ven afectadas por la distribución del potencial electrostático, lo cual es fundamental en el diseño de moléculas con propiedades farmacológicas deseables. En resumen, aunque las moléculas estudiadas tienen estructuras similares, los diferentes grupos funcionales y sus posiciones afectan significativamente sus propiedades electrónicas y de reactividad, aspectos fundamentales en la investigación y desarrollo de aplicaciones farmacológicas y materiales.

5.2 Descriptores de reactividad global

En la Tabla 7 se observa la misma tendencia en los resultados de los descriptores de reactividad química global en ambos niveles de teoría. El equol presenta el mayor potencial químico (μ), es decir tiene mayor capacidad de intercambiar densidad electrónica con su entorno, mientras que la genisteína muestra el menor potencial. En términos de la electronegatividad (χ), la genisteína presenta mayor resistencia a la pérdida de densidad electrónica, a diferencia del equol, que presenta la menor electronegatividad. En cuanto a la dureza (η), el equol muestra una mayor resistencia a cambiar su densidad electrónica, lo que confirma su menor reactividad observada en la tabla de energías gap, mientras que la genisteína tiene la menor resistencia. La blandura (s), que es inversa a la dureza, confirma estos resultados, siendo el equol el menos blando y la genisteína la más blanda. En relación con el índice de electrofilicidad (ω), la genisteína es la más electrofílica, indicando que es el mejor aceptador de electrones entre las moléculas estudiadas, mientras que el equol es el menos electrofílico. Podemos catalogar con los valores de electrofilicidad que todas las flavonas estudiadas son electrófilos fuertes.

Tabla 7. Descriptores de reactividad global de las isoflavonas en estudio (eV)

| B3LYP/6-31G | | | | | |
|------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Molécula | μ | χ | η | s | ω |
| Genisteína | -3.9121 | 3.9121 | 4.0472 | 0.2471 | 1.8907 |
| Daidzeína | -3.7371 | 3.7371 | 4.1288 | 0.2422 | 1.6913 |
| Equol | -2.9844 | 2.9844 | 5.4339 | 0.1840 | 0.8196 |
| Gliciteína | -3.6670 | 3.6670 | 4.1465 | 0.2412 | 1.6215 |
| B3LYP/6-31+G(d) | | | | | |
| Molécula | μ | χ | η | s | ω |
| Genisteína | -4.0068 | 4.0068 | 4.2066 | 0.2377 | 1.9082 |
| Daidzeína | -3.9061 | 3.9061 | 4.2175 | 0.2371 | 1.8088 |

| | | | | | |
|-------------------|---------|--------|--------|--------|--------|
| Equol | -3.2821 | 3.2821 | 5.2249 | 0.1914 | 1.0309 |
| Gliciteína | -3.8114 | 3.8114 | 4.2491 | 0.2353 | 1.7094 |

Descriptores de reactividad: μ , potencial electroquímico; χ , electronegatividad; η , dureza; s , blandura; ω , electrofilicidad.

Los descriptores de reactividad global son útiles para entender cómo estas moléculas pueden reaccionar en diferentes contextos químicos y biológicos. La genisteína, con sus valores de potencial químico, dureza, blandura, muestra ser relativamente estable y con buena capacidad de reacción. La daidzeína, con valores similares, pero ligeramente más reactiva, refleja una menor estabilidad. Equol, con una mayor dureza y menor blandura, muestra una menor reactividad y mayor estabilidad. La gliciteína, influenciada por el grupo metoxi, presenta un aumento en su estabilidad.

5.3 Acoplamiento molecular

En el acoplamiento molecular se analizan los resultados obtenidos de la interacción de las moléculas de interés con el receptor de estrógeno y el receptor de dopamina.

5.3.1 Receptor de estrógeno

De las poses generadas en ambos acoplamientos, se generó la Tabla 8 en la que se muestra las puntuaciones de AutoDock 4 en energía libre y de GOLD con la puntuación GOLDScore. Del redocking generado con AutoDock 4 para el receptor de estrógeno con el estradiol, se obtiene una energía de -10.64 kcal/mol y para Gold una puntuación de 45.7009 dándonos una referencia para el análisis con las isoflavonas. Del grupo de isoflavonas se presenta equol con una energía libre de -8.08 kcal/mol y daidzeína de -7.80 kcal/mol en AutoDock 4 siendo las que mejor puntuación tienen, lo cual coincide con los puntajes reportados por el programa GOLD. Aunque sus puntuaciones están a dos unidades por debajo del generado por estradiol, al observar sus interacciones con los aminoácidos más a fondo podemos discernir mejor su posible actividad.

Tabla 8. Puntuaciones GOLD y AutoDock4 del receptor de estrógeno y el conjunto de las isoflavonas en estudio

| Molécula | AutoDock 4 (kcal/mol) | GOLD (Goldscore) |
|-------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| Estradiol | -10.64 | 45.7009 |
| Genisteína | -7.32 | 44.5594 |
| Daidzeína | -7.80 | 46.0519 |
| Equol | -8.08 | 45.8762 |
| Gliciteína | -7.32 | 40.7828 |

En la Figura 18 se muestra la cavidad de unión del receptor de estrógeno el cual está compuesto por las hélices H2, H3 y H6. Del sitio activo podemos destacar que en H3 y H6 se generan interacciones por puente de hidrógeno con el estradiol a través de los residuos Glu353 y Arg394, además de realizar otro puente de hidrógeno con la His524 que se encuentra en H2 [84]. Lo anterior coincide con la pose obtenida en el redocking realizado con el estradiol en AutoDock 4. El estradiol y las isoflavonas se encuentran en el sitio de unión con una orientación muy parecida en todas las poses presentadas.

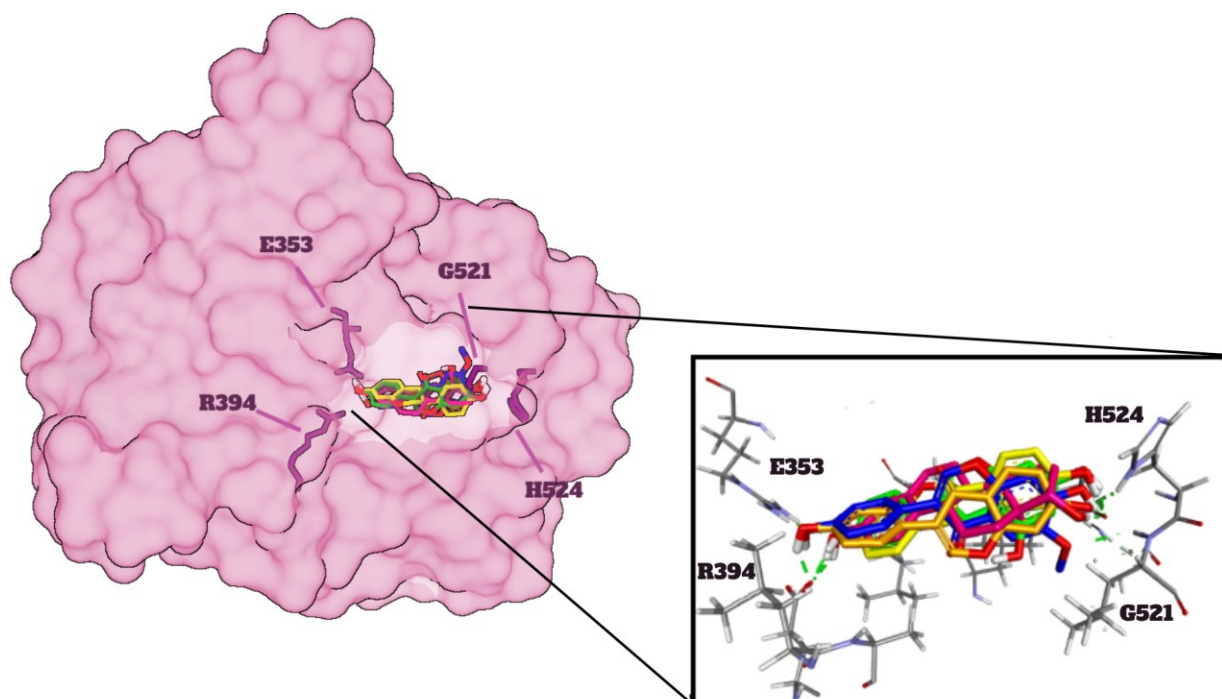


Figura 18. Cavity del receptor estrógeno. En la cavity se encuentran los aminoácidos arginina 394, glicina 521, histidina 524, ácido glutámico 353. Se representan los cinco ligandos de la siguiente manera: el estradiol (rosa), daidzeína (naranja), equol (amarillo), genisteína (verde) y gliciteína (azul). Las líneas en verde muestran las interacciones por puente de hidrógeno con los aminoácidos del bolsillo de unión.

Al comparar la pose del redocking con los acoplamientos de las isoflavonas, se observan (Figura 19) claramente las interacciones por puente de hidrógeno mostradas con una línea verde. Para las cuatro isoflavonas se observa este tipo de interacción con el residuo Glu353. Por otra parte, His524 tiene interacción con daidzeína y gliciteína, y Arg394 con equol y genisteína. Por último, tres de las cuatro isoflavonas establecen interacción por puente de hidrógeno con Gly521.

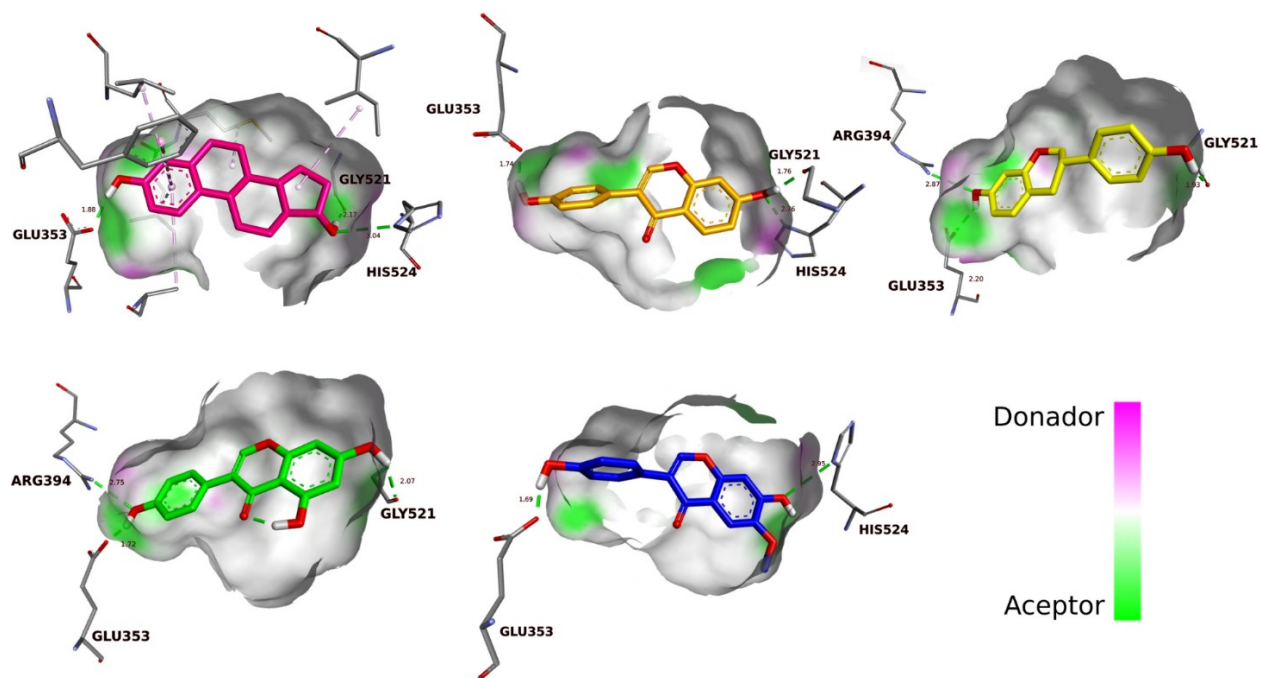


Figura 19. Mapas 3D de los compuestos de la interacción de los aminoácidos de interés del receptor de estrógeno. Se muestra al estradiol (rosa), daidzeína (naranja), equol (amarillo), genisteína (verde) y gliciteína (azul). Se observan las interacciones por puentes de hidrógeno de forma individual para cada ligando.

En el mapa 2D (Figura 20) se pueden identificar otras interacciones que comparten estos cinco compuestos, con aminoácidos que son parte del sitio activo. Todas comparten interacciones π - π con Phe404 e interacciones mixtas para Ala 50, Leu387. Equol, genisteína y gliciteína las establece con Leu52. Solamente gliciteína muestra interacciones de tipo Van der Waals con Ile424.

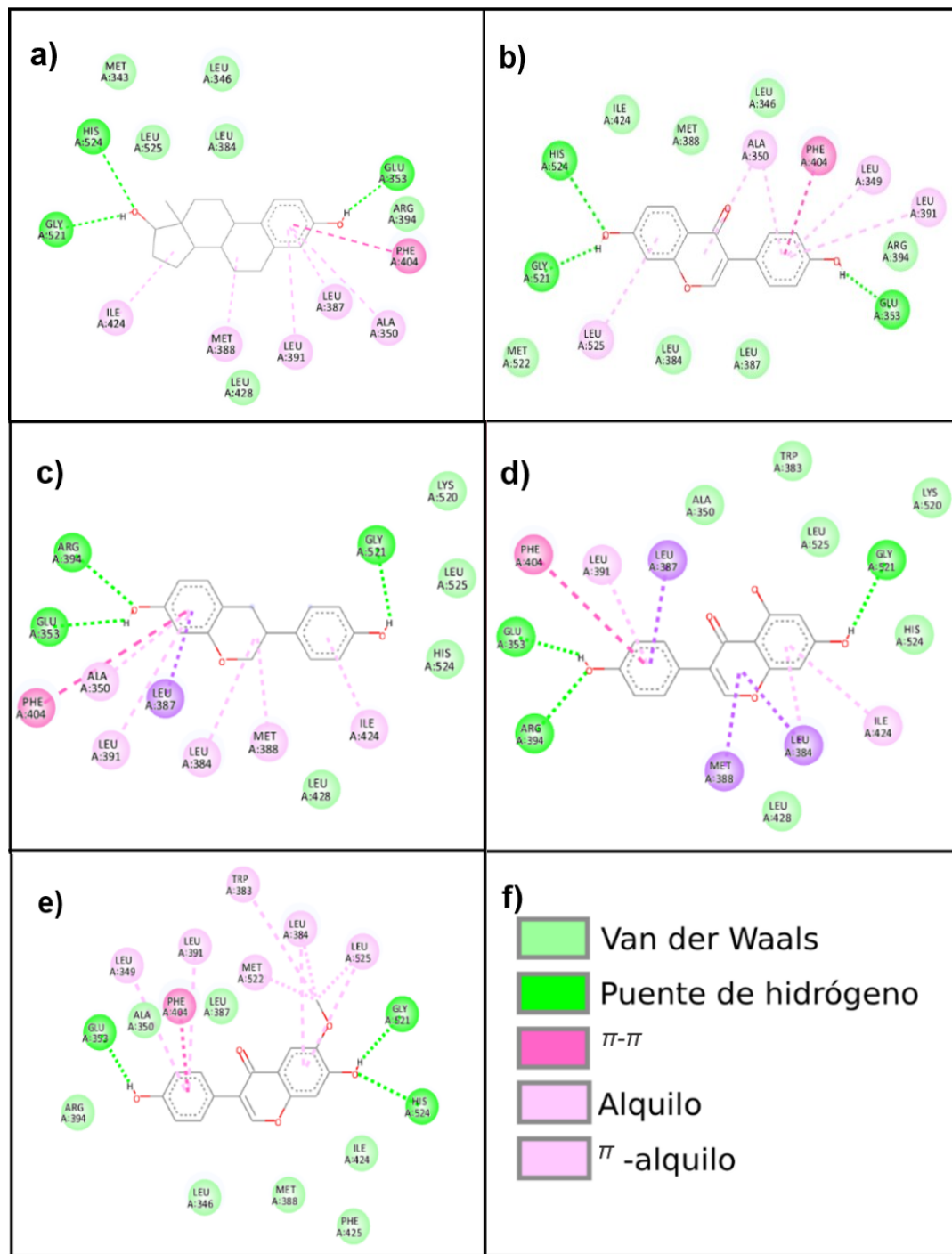


Figura 20. Mapas 2D de interacciones de los cinco ligandos con el receptor de estrógeno, a) estradiol, b) daidzeína, c) equol, d) genisteína y, e) gliciteína. En f) se muestra la leyenda de las interacciones.

De acuerdo con los puntajes de acoplamiento y el análisis de las interacciones moleculares, el equol mostró el puntaje más alto entre los compuestos evaluados. Sin embargo, a diferencia del control (estradiol), el equol no presentó exactamente las mismas interacciones moleculares. Por otro lado, la daidzeína, que obtuvo el segundo mejor puntaje, sí mostró un patrón de interacciones similar al del control. En contraste, compuestos como la gliciteína y la genisteína, aunque exhibieron interacciones favorables, mostraron una disminución en sus puntajes de acoplamiento. Además, estos compuestos formaron puentes de hidrógeno con algunos aminoácidos que no muestra el control, lo que sugiere diferencias en su mecanismo de unión.

5.3.2 Receptor de dopamina

Los puntajes para las isoflavonas y el receptor de dopamina mostrados en la Tabla 9 son parecidos para equol, genisteína y gliciteína. Daidzeína es el compuesto que muestra la energía más positiva de interacción alejándose no solo de las demás isoflavonas, sino también del control risperidona.

Tabla 9. Puntuaciones GOLD y AutoDock Vina del receptor de dopamina y el conjunto de las isoflavonas en estudio.

| Molécula | AutoDock Vina (kcal/mol) | GOLD (Goldscore) |
|--------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| Risperidona | -11.1 | 55.9597 |
| Genisteína | -9.3 | 45.0607 |
| Daidzeína | -7.6 | 40.5599 |
| Equol | -9.4 | 45.0607 |
| Gliciteína | -9.3 | 46.7344 |

El receptor D2 de dopamina presenta una cavidad profunda formada por la disposición estructural de las hélices TMIII, TMV y TMVI (Figura 13). Dentro de esta cavidad, residuos como Cys118, Thr119, Ser197, Phe198, Phe382, Phe390 y Trp386 participan en interacciones clave. El residuo Asp114 establece un puente de hidrógeno con la

risperidona y Trp100 resulta esencial para la estabilización del complejo entre el receptor D2 y la risperidona [85]. Estos resultados son consistentes con los obtenidos en el redocking realizado en AutoDock Vina.

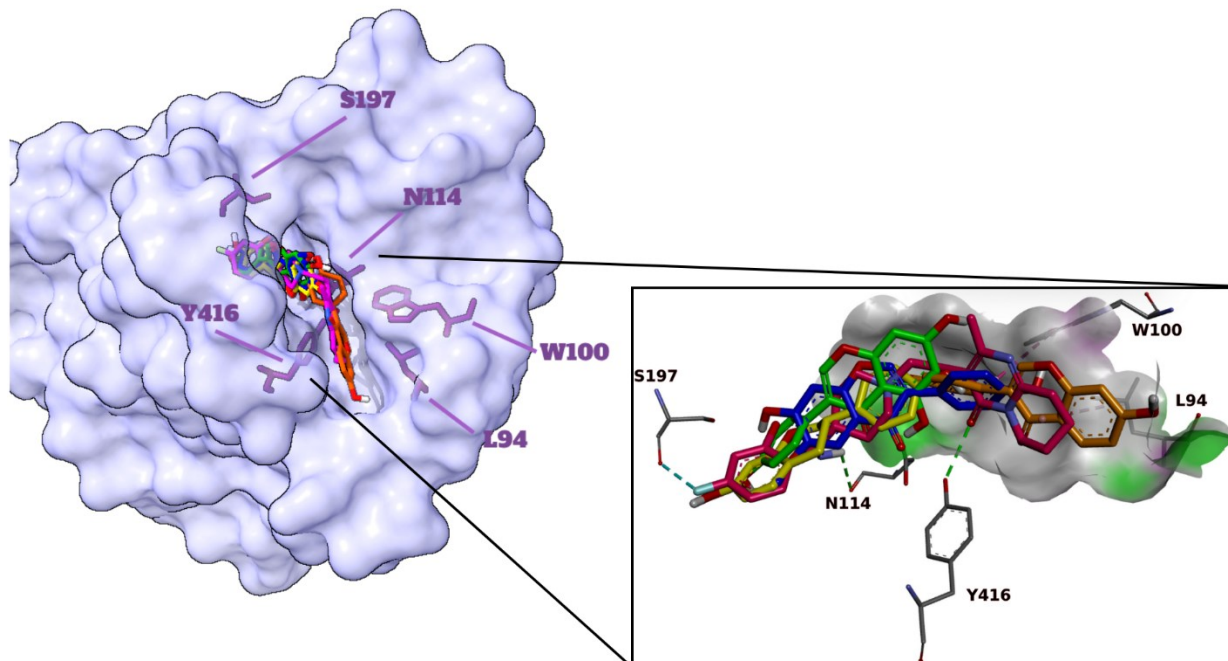


Figura 21. Cavidad del receptor D2 de dopamina. En la cavidad se encuentra los aminoácidos Asparagina 114, Triptófano 100, Serina 197. Los cinco ligandos, risperidona(rosa), daidzeína (naranja), equol (amarillo), genisteína (verde) y gliciteína (azul).

Los resultados del acoplamiento molecular muestran que todas las isoflavonas se ubican dentro de la cavidad del receptor D2 (Figura 21). La mayoría de estas isoflavonas comparten una posición cercana al residuo Ser197, lo que sugiere un patrón común de interacción. Sin embargo, la daidzeína presenta una orientación distinta, ubicándose más próxima al residuo Leu94. Esta diferencia en la disposición espacial indica que, aunque todas las isoflavonas ocupan la cavidad del receptor D2, la daidzeína adopta una pose única en comparación con las demás.

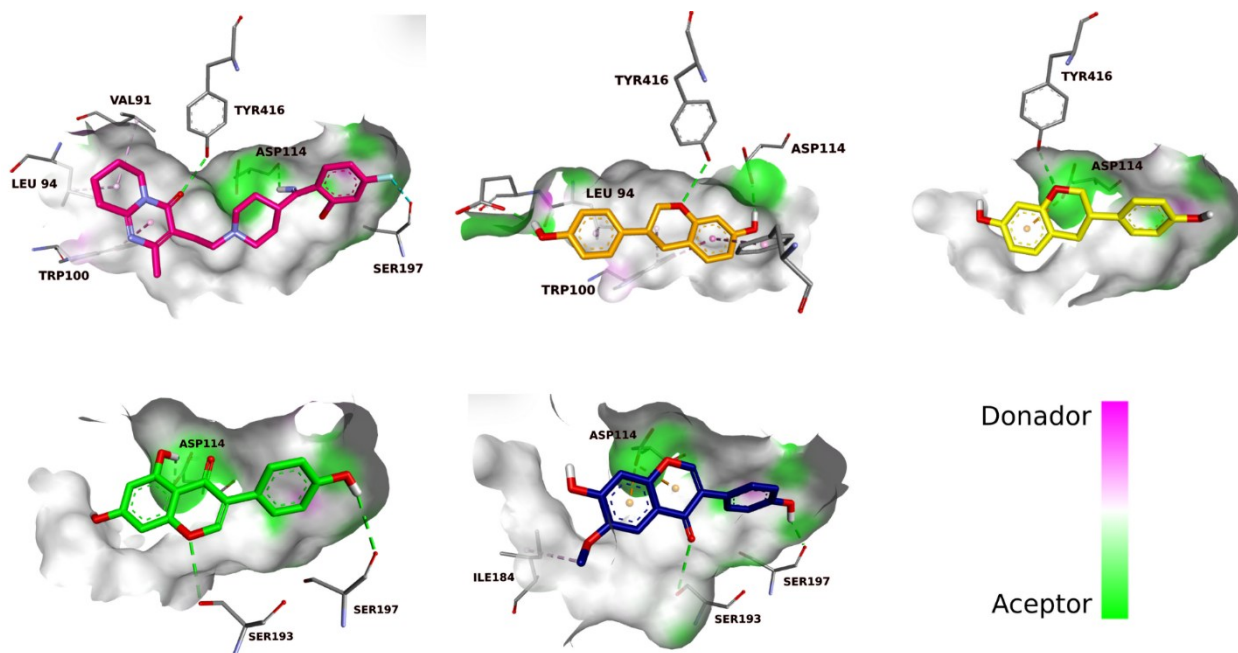


Figura 22. Mapas 3D de los compuestos de la interacción de los aminoácidos de interés del receptor de dopamina. Los cinco ligandos risperidona (rosa), daidzeína (naranja), equol (amarillo), genisteína (verde) y gliciteína (azul). Se observa las interacciones con puentes de hidrógeno de forma individual para ligando.

Los mapas 3D de la Figura 22 muestran las interacciones relevantes del sitio de unión en donde se observa que las cuatro moléculas comparten interacción con Asp114, un aminoácido con mucha relevancia para el posicionamiento de la interacción ligando-receptor. Para daidzeína y equol se encuentra la interacción con Tyr416, para gliciteína y genisteína Ser197, aunque ya no es una interacción de halógeno, ésta es remplazada por una de puente de hidrógeno. Solamente para daidzeína se encuentra la interacción con Trp100 con una interacción π - π lo cual se puede observar claramente en la Figura 22.

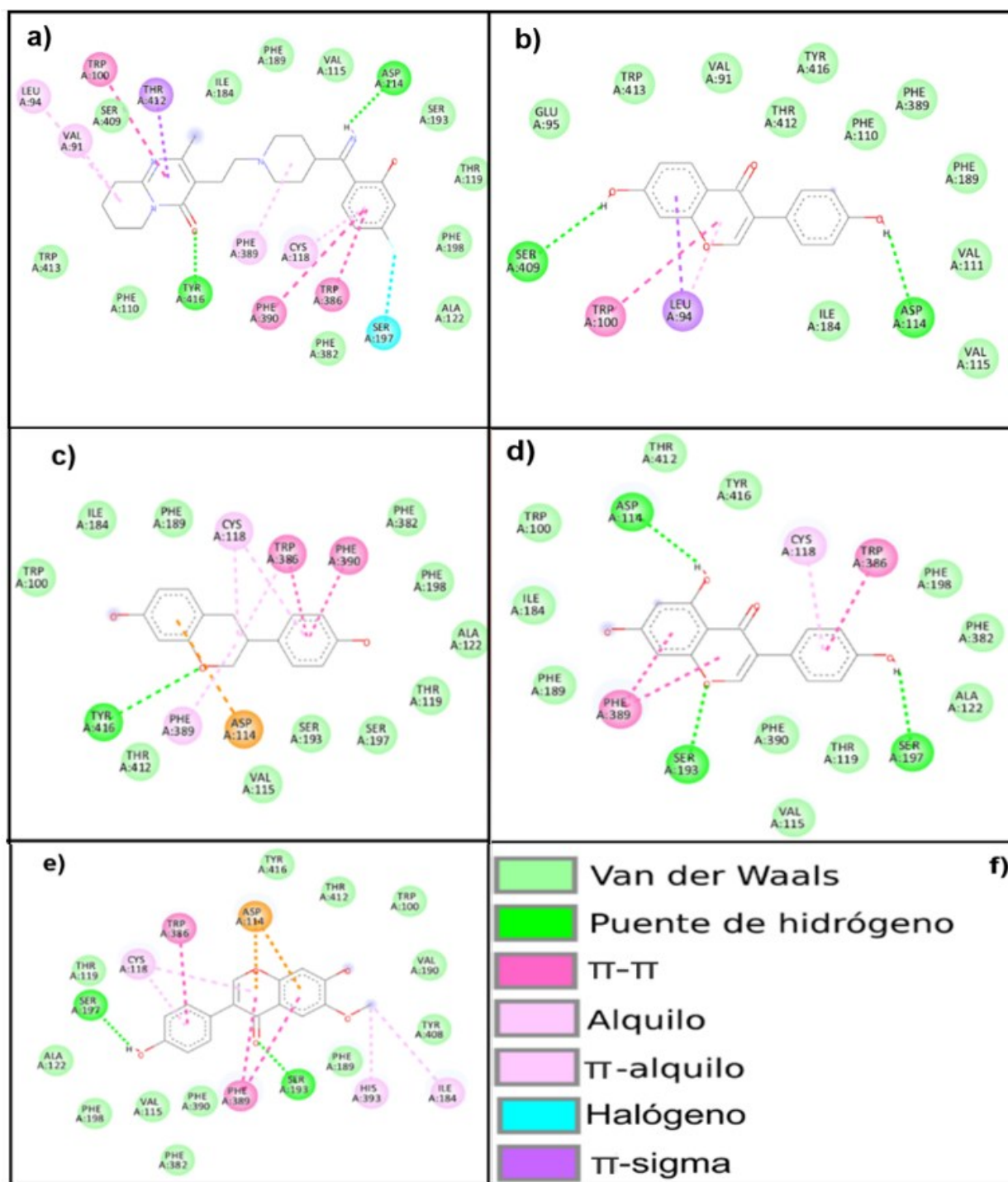


Figura 23. Mapas 2D de interacciones del receptor de dopamina. Los ligandos son a) risperidona, b) daidzeína, c) equol, d) genisteína, y e) gliciteína. En f) se presenta la leyenda de las interacciones.

En los mapas de interacción de la Figura 23 se puede verificar la interacción con los otros aminoácidos del sitio activo como con Cys118, Thr 119, Phe 198 para equol,

gliciteína y genisteína. A excepción de daidzeína las otras isoflavonas muestran interacciones de Van der Waals con Trp100.

Por la diferencia de tamaño de las isoflavonas con risperidona no se logra obtener todas las interacciones presentadas por risperidona. A pesar de esta diferencia se encuentran varias interacciones clave con los aminoácidos del sitio activo de D2, Siendo genisteína y gliciteína las mejores opciones tanto en score como interacciones para este receptor.

Capítulo 6. Conclusiones

El estudio computacional de los compuestos activos de la soya, específicamente las isoflavonas, ha revelado información valiosa sobre su potencial terapéutico como moduladores de los receptores de estrógeno- α y dopamina D2. A través del uso de métodos computacionales, como cálculos de estructura electrónica basados en DFT y cálculos de acoplamiento molecular, se analizaron las propiedades electrónicas y de reactividad química de los ligandos derivados de isoflavonas y se identificaron y caracterizaron las interacciones clave que estos compuestos forman con los receptores objetivo.

La alta afinidad de las isoflavonas por los receptores de estrógeno- α y dopamina D2 se debe en gran parte a su capacidad para formar interacciones específicas con residuos clave en el sitio de unión. En el caso del receptor de estrógeno- α , las isoflavonas interactúan fuertemente con Glu353, Arg394 e His524, mientras que en el receptor de dopamina D2, las interacciones con Asp114, Ser197 y Trp100 son cruciales. Estas interacciones específicas son facilitadas por la presencia de grupos funcionales como los hidroxilos, que forman puentes de hidrógeno estabilizadores.

Los mapas de interacción generados para los complejos ligando-receptor proporcionan una visión detallada de cómo las isoflavonas se acomodan en el sitio de unión y establecen interacciones críticas. A pesar de las diferencias estructurales entre las isoflavonas y los ligandos naturales, hay una notable superposición en las regiones de interacción, lo que indica que estos compuestos pueden imitar efectivamente las funciones de los agonistas y antagonistas naturales. Esta capacidad de formar

múltiples y fuertes interacciones intermoleculares contribuye a la alta estabilidad y afinidad de unión observadas en los estudios de acoplamiento molecular.

Este estudio proporciona una base sólida para la consideración de las isoflavonas como potenciales moduladores terapéuticos de los receptores de estrógeno- α y dopamina D2. Los hallazgos de afinidad de unión, interacciones específicas de aminoácidos, y parámetros de reactividad química indican que estos fitoquímicos podrían desempeñar un papel significativo en el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de la hipogalactia. Las investigaciones futuras deben centrarse en validar estos resultados y explorar la aplicabilidad clínica de estos compuestos naturales.

Bibliografía

- [1] D. D. Jebena and M. W. Tenagashaw, “Breastfeeding practice and factors associated with exclusive breastfeeding among mothers in Horro District, Ethiopia: A community-based cross-sectional study,” *PLoS One*, vol. 17, no. 4, p. e0267269, Apr. 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0267269.
- [2] Organización Mundial de la Salud, “Guideline: counselling of women to improve breastfeeding practices.,” 2018. Accessed: Apr. 24, 2024. [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241550468>
- [3] Organización Mundial de la Salud, “Indicators for assessing infant and young child feeding practices Part 1 Definitions,” 2008.
- [4] Y. Huang, Y. Liu, X. Yu, and T. Zeng, “The rates and factors of perceived insufficient milk supply: A systematic review,” *Matern Child Nutr*, vol. 18, no. 1, Jan. 2022, doi: 10.1111/mcn.13255.
- [5] L. D. González-Castell, M. Unar-Munguía, A. D. Quezada-Sánchez, A. Bonvecchio-Arenas, and J. Rivera-Dommarco, “Situación de las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria en México: resultados de la Ensanut 2018-19,” *Salud Pública Mex*, vol. 62, no. 6, Nov-Dic, pp. 704–713, Nov. 2020, doi: 10.21149/11567.
- [6] G. Cazorla-Ortiz, N. Obregón-Guitérrez, M. R. Rozas-García, and J. Goberna-Tricas, “Methods and Success Factors of Induced Lactation: A Scoping Review,” *Journal of Human Lactation*, vol. 36, no. 4, pp. 739–749, Nov. 2020, doi: 10.1177/0890334420950321.
- [7] S. C. Foong, M. L. Tan, W. C. Foong, L. A. Marasco, J. J. Ho, and J. H. Ong, “Oral galactagogues (natural therapies or drugs) for increasing breast milk production in mothers of non-hospitalised term infants,” *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 2020, no. 5, May 2020, doi: 10.1002/14651858.CD011505.pub2.
- [8] Y. S. Jung, C.-S. Rha, M.-Y. Baik, N.-I. Baek, and D.-O. Kim, “A brief history and spectroscopic analysis of soy isoflavones,” *Food Sci Biotechnol*, vol. 29, no. 12, pp. 1605–1617, Dec. 2020, doi: 10.1007/s10068-020-00815-6.
- [9] G. Rizzo, A. Feraco, M. A. Storz, and M. Lombardo, “The role of soy and soy isoflavones on women’s fertility and related outcomes: an update,” *J Nutr Sci*, vol. 11, p. e17, Mar. 2022, doi: 10.1017/jns.2022.15.
- [10] S. Truchet and E. Honvo-Houéto, “Physiology of milk secretion,” *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, vol. 31, no. 4, pp. 367–384, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.beem.2017.10.008.

- [11] M. Al-Chalabi, A. N. Bass, and I. Als Salman, *Physiology, Prolactin*. 2024.
- [12] A. Alex, E. Bhandary, and K. P. McGuire, "Anatomy and Physiology of the Breast during Pregnancy and Lactation," 2020, pp. 3–7. doi: 10.1007/978-3-030-41596-9_1.
- [13] S. Y. Kim and D. Y. Yi, "Components of human breast milk: from macronutrient to microbiome and microRNA," *Clin Exp Pediatr*, vol. 63, no. 8, pp. 301–309, Aug. 2020, doi: 10.3345/cep.2020.00059.
- [14] O. Ballard and A. L. Morrow, "Human Milk Composition," *Pediatr Clin North Am*, vol. 60, no. 1, pp. 49–74, Feb. 2013, doi: 10.1016/j.pcl.2012.10.002.
- [15] D. Ramiro-Cortijo *et al.*, "Breast Milk Lipids and Fatty Acids in Regulating Neonatal Intestinal Development and Protecting against Intestinal Injury," *Nutrients*, vol. 12, no. 2, p. 534, Feb. 2020, doi: 10.3390/nu12020534.
- [16] D. K. Dror and L. H. Allen, "Overview of Nutrients in Human Milk," *Advances in Nutrition*, vol. 9, pp. 278S-294S, May 2018, doi: 10.1093/advances/nmy022.
- [17] E. C. Davis *et al.*, "Gut microbiome and breast-feeding: Implications for early immune development," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 150, no. 3, pp. 523–534, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.jaci.2022.07.014.
- [18] M. Chu *et al.*, "MicroRNA-221 may be involved in lipid metabolism in mammary epithelial cells," *Int J Biochem Cell Biol*, vol. 97, pp. 118–127, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.biocel.2018.02.014.
- [19] N. Kosaka, H. Izumi, K. Sekine, and T. Ochiya, "microRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk," *Silence*, vol. 1, no. 1, p. 7, Dec. 2010, doi: 10.1186/1758-907X-1-7.
- [20] C. C. Almeida, B. F. Mendonça Pereira, K. C. Leandro, M. P. Costa, B. F. Spisso, and C. A. Conte-Junior, "Bioactive Compounds in Infant Formula and Their Effects on Infant Nutrition and Health: A Systematic Literature Review," *Int J Food Sci*, vol. 2021, pp. 1–31, May 2021, doi: 10.1155/2021/8850080.
- [21] D. Traves, "All you ever wanted to know about infant formulas (but were afraid to ask)," *Paediatr Child Health*, vol. 31, no. 8, pp. 316–321, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.paed.2021.05.003.
- [22] "Productos y servicios. Fórmulas para lactantes, de continuación y para necesidades especiales de nutrición. Alimentos y bebidas no alcohólicas para lactantes y niños de corta edad. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Etiquetado y métodos de prueba'. NORMA

OFICIAL MEXICANA NOM-131-SSA1-2012,” *Diario Oficial de la Federación*, Sep. 10, 2012.

- [23] Procuraduría Federal del Consumidor, “Fórmulas para lactantes,” *Revista del consumidor*, pp. 10–28, Apr. 2022.
- [24] M. E. Smith, G. Cisbani, R. J. S. Lacombe, and R. P. Bazinet, “A Scoping Review of Clinical Studies in Infants Fed Formulas Containing Palm Oil or Palm Olein and Sn-2 Palmitate,” *J Nutr*, vol. 151, no. 10, pp. 2997–3035, Oct. 2021, doi: 10.1093/jn/nxab246.
- [25] A. EL-Khuffash, A. Jain, A. J. Lewandowski, and P. T. Levy, “Preventing disease in the 21st century: early breast milk exposure and later cardiovascular health in premature infants,” *Pediatr Res*, vol. 87, no. 2, pp. 385–390, Jan. 2020, doi: 10.1038/s41390-019-0648-5.
- [26] C. R. Devi, N. A., and N. S. Raghupathy, “A quality improvement study on breastfeeding initiation rate within 1 hour of life in inborn neonates in a tertiary care centre,” *Int J Contemp Pediatrics*, vol. 7, no. 2, p. 252, Jan. 2020, doi: 10.18203/2349-3291.ijcp20200059.
- [27] C. Atyeo and G. Alter, “The multifaceted roles of breast milk antibodies,” *Cell*, vol. 184, no. 6, pp. 1486–1499, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.cell.2021.02.031.
- [28] M. E. Miettinen, J. Honkanen, S. Niinistö, O. Vaarala, S. M. Virtanen, and M. Knip, “Breastfeeding and circulating immunological markers during the first 3 years of life: the DIABIMMUNE study,” *Diabetologia*, vol. 65, no. 2, pp. 329–335, Feb. 2022, doi: 10.1007/s00125-021-05612-2.
- [29] S. R. Ames, L. C. Lotoski, and M. B. Azad, “Comparing early life nutritional sources and human milk feeding practices: personalized and dynamic nutrition supports infant gut microbiome development and immune system maturation,” *Gut Microbes*, vol. 15, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1080/19490976.2023.2190305.
- [30] E. B. Isaacs, B. R. Fischl, B. T. Quinn, W. K. Chong, D. G. Gadian, and A. Lucas, “Impact of Breast Milk on Intelligence Quotient, Brain Size, and White Matter Development,” *Pediatr Res*, vol. 67, no. 4, pp. 357–362, Apr. 2010, doi: 10.1203/PDR.0b013e3181d026da.
- [31] Y. Zhang *et al.*, “The impact of breast milk feeding on early brain development in preterm infants in China: An observational study,” *PLoS One*, vol. 17, no. 11, p. e0272125, Nov. 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0272125.
- [32] A. Calik-Ksepka, M. Stradczuk, K. Czarnecka, M. Grymowicz, and R. Smolarczyk, “Lactational Amenorrhea: Neuroendocrine Pathways

- Controlling Fertility and Bone Turnover,” *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 3, p. 1633, Jan. 2022, doi: 10.3390/ijms23031633.
- [33] D. Fan *et al.*, “Role of breastfeeding on maternal and childhood cancers: An umbrella review of meta-analyses,” *J Glob Health*, vol. 13, p. 04067, Jun. 2023, doi: 10.7189/jogh.13.04067.
- [34] B. Stordal, “Breastfeeding reduces the risk of breast cancer: A call for action in high-income countries with low rates of breastfeeding,” *Cancer Med*, vol. 12, no. 4, pp. 4616–4625, Feb. 2023, doi: 10.1002/cam4.5288.
- [35] A. Babic *et al.*, “Association Between Breastfeeding and Ovarian Cancer Risk,” *JAMA Oncol*, vol. 6, no. 6, p. e200421, Jun. 2020, doi: 10.1001/jamaoncol.2020.0421.
- [36] L. Tschiderer, L. Seekircher, S. K. Kunutsor, S. A. E. Peters, L. M. O’Keeffe, and P. Willeit, “Breastfeeding Is Associated With a Reduced Maternal Cardiovascular Risk: Systematic Review and Meta-Analysis Involving Data From 8 Studies and 1 192 700 Parous Women,” *J Am Heart Assoc*, vol. 11, no. 2, Jan. 2022, doi: 10.1161/JAHA.121.022746.
- [37] R. M. Rameez *et al.*, “Association of Maternal Lactation With Diabetes and Hypertension,” *JAMA Netw Open*, vol. 2, no. 10, p. e1913401, Oct. 2019, doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.13401.
- [38] C. Binns and M. K. Lee, “Public Health Impact of Breastfeeding,” in *Oxford Research Encyclopedia of Global Public Health*, Oxford University Press, 2019. doi: 10.1093/acrefore/9780190632366.013.66.
- [39] D. D. Walters, L. T. H. Phan, and R. Mathisen, “The cost of not breastfeeding: global results from a new tool,” *Health Policy Plan*, vol. 34, no. 6, pp. 407–417, Jul. 2019, doi: 10.1093/heapol/czz050.
- [40] R. M. L. Ruth A. Lawrence, *Breastfeeding A Guide for the Medical Profession*, 9th ed. 2021.
- [41] F. Dutheil *et al.*, “Breastfeeding after Returning to Work: A Systematic Review and Meta-Analysis,” *Int J Environ Res Public Health*, vol. 18, no. 16, p. 8631, Aug. 2021, doi: 10.3390/ijerph18168631.
- [42] J. C. Kent, D. K. Prime, and C. P. Garbin, “Principles for Maintaining or Increasing Breast Milk Production,” *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing*, vol. 41, no. 1, pp. 114–121, Jan. 2012, doi: 10.1111/j.1552-6909.2011.01313.x.
- [43] L. E. Grzeskowiak, M. E. Wlodek, and D. T. Geddes, “What Evidence Do We Have for Pharmaceutical Galactagogues in the Treatment of Lactation

- Insufficiency?—A Narrative Review,” *Nutrients*, vol. 11, no. 5, p. 974, Apr. 2019, doi: 10.3390/nu11050974.
- [44] L. Han, S.-N. Lu, T. Nishimura, and K. Kobayashi, “Regulatory roles of dopamine D2 receptor in milk protein production and apoptosis in mammary epithelial cells,” *Exp Cell Res*, vol. 439, no. 1, p. 114090, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.yexcr.2024.114090.
- [45] W. Brodribb, “ABM Clinical Protocol #9: Use of Galactogogues in Initiating or Augmenting Maternal Milk Production, Second Revision 2018,” *Breastfeeding Medicine*, vol. 13, no. 5, pp. 307–314, Jun. 2018, doi: 10.1089/bfm.2018.29092.wjb.
- [46] A. Chambers, E. Emmott, S. Myers, and A. Page, “Emotional and informational social support from health visitors and breastfeeding outcomes in the UK,” *Int Breastfeed J*, vol. 18, no. 1, p. 14, Mar. 2023, doi: 10.1186/s13006-023-00551-7.
- [47] G. Cazorla-Ortiz, N. Obregón-Guitérrez, M. R. Rozas-Garcia, and J. Goberna-Tricas, “Methods and Success Factors of Induced Lactation: A Scoping Review,” *Journal of Human Lactation*, vol. 36, no. 4, pp. 739–749, Nov. 2020, doi: 10.1177/0890334420950321.
- [48] C. Fang and F. Kong, “Soybean,” *Current Biology*, vol. 32, no. 17, pp. R902–R904, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.cub.2022.06.054.
- [49] G. Rizzo, A. Feraco, M. A. Storz, and M. Lombardo, “The role of soy and soy isoflavones on women’s fertility and related outcomes: an update,” *J Nutr Sci*, vol. 11, p. e17, Mar. 2022, doi: 10.1017/jns.2022.15.
- [50] “Boletín mensual de producción Soya Noviembre 2019,” Dec. 2019.
- [51] C. Hu, W.-T. Wong, R. Wu, and W.-F. Lai, “Biochemistry and use of soybean isoflavones in functional food development,” *Crit Rev Food Sci Nutr*, vol. 60, no. 12, pp. 2098–2112, Jul. 2020, doi: 10.1080/10408398.2019.1630598.
- [52] B. Mayo, L. Vázquez, and A. B. Flórez, “Equol: A Bacterial Metabolite from The Daidzein Isoflavone and Its Presumed Beneficial Health Effects,” *Nutrients*, vol. 11, no. 9, p. 2231, Sep. 2019, doi: 10.3390/nu11092231.
- [53] E. G. Lewars, *Computational Chemistry*. Cham: Springer International Publishing, 2024. doi: 10.1007/978-3-031-51443-2.
- [54] W. Thiel, “Semiempirical quantum-chemical methods in computational chemistry,” in *Theory and Applications of Computational Chemistry*, Elsevier, 2005, pp. 559–580. doi: 10.1016/B978-044451719-7/50064-0.

- [55] A. Karton, "Quantum mechanical thermochemical predictions 100 years after the Schrödinger equation," 2022, pp. 123–166. doi: 10.1016/bs.arcc.2022.09.003.
- [56] L. Tam, R. Wu, J. Hou, and C. Wu, "Basics of Molecular Dynamics Simulation Methods," in *Molecular Simulation Investigations of Property Degradation in CFRP Composite*, Singapore: Springer Nature Singapore, 2024, pp. 35–51. doi: 10.1007/978-981-97-3901-1_3.
- [57] E. Cancès and G. Friesecke, Eds., *Density Functional Theory*. Cham: Springer International Publishing, 2023. doi: 10.1007/978-3-031-22340-2.
- [58] L. Domingo, M. Ríos-Gutiérrez, and P. Pérez, "Applications of the Conceptual Density Functional Theory Indices to Organic Chemistry Reactivity," *Molecules*, vol. 21, no. 6, p. 748, Jun. 2016, doi: 10.3390/molecules21060748.
- [59] A. D. Becke, "Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange," *J Chem Phys*, vol. 98, no. 7, pp. 5648–5652, Apr. 1993, doi: 10.1063/1.464913.
- [60] R. Ditchfield, W. J. Hehre, and J. A. Pople, "Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. IX. An Extended Gaussian-Type Basis for Molecular-Orbital Studies of Organic Molecules," *J Chem Phys*, vol. 54, no. 2, pp. 724–728, Jan. 1971, doi: 10.1063/1.1674902.
- [61] F. De Proft and P. Geerlings, "Calculation of ionization energies, electron affinities, electronegativities, and hardnesses using density functional methods," *J Chem Phys*, vol. 106, no. 8, pp. 3270–3279, Feb. 1997, doi: 10.1063/1.473796.
- [62] R. Krishnan, J. S. Binkley, R. Seeger, and J. A. Pople, "Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions," *J Chem Phys*, vol. 72, no. 1, pp. 650–654, Jan. 1980, doi: 10.1063/1.438955.
- [63] P. T. Czech, "Molecular Orbital Theory," in *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, Wiley, 2005. doi: 10.1002/9781119951438.eibc0134.
- [64] F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*, 3rd ed. John Wiley & Sons, 2006.
- [65] K. Fukui, "The Role of Frontier Orbitals in Chemical Reactions (Nobel Lecture)," *Angewandte Chemie International Edition in English*, vol. 21, no. 11, pp. 801–809, Nov. 1982, doi: 10.1002/anie.198208013.

- [66] A. M. Köster, M. Leboeuf, and D. R. Salahub, "Molecular Electrostatic Potentials from Density Functional Theory," 1996, pp. 105–142. doi: 10.1016/S1380-7323(96)80042-2.
- [67] L. Lu, H. Hu, H. Hou, and B. Wang, "An improved B3LYP method in the calculation of organic thermochemistry and reactivity," *Comput Theor Chem*, vol. 1015, pp. 64–71, Jul. 2013, doi: 10.1016/j.comptc.2013.04.009.
- [68] F. Stanzione, I. Giangreco, and J. C. Cole, "Use of molecular docking computational tools in drug discovery," 2021, pp. 273–343. doi: 10.1016/bs.pmch.2021.01.004.
- [69] O. Trott and A. J. Olson, "AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading," *J Comput Chem*, vol. 31, no. 2, pp. 455–461, Jan. 2010, doi: 10.1002/jcc.21334.
- [70] G. M. Morris *et al.*, "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility," *J Comput Chem*, vol. 30, no. 16, pp. 2785–2791, Dec. 2009, doi: 10.1002/jcc.21256.
- [71] M. L. Verdonk, J. C. Cole, M. J. Hartshorn, C. W. Murray, and R. D. Taylor, "Improved protein–ligand docking using GOLD," *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 52, no. 4, pp. 609–623, Sep. 2003, doi: 10.1002/prot.10465.
- [72] G. M. Morris *et al.*, "Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function," *J Comput Chem*, vol. 19, no. 14, pp. 1639–1662, Nov. 1998, doi: 10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B.
- [73] Cambridge Crystallographic Data Centre, "Estructura cristalina de Genisteína," 1975. [Online]. Available: <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/Search?Ccdcid=1165997>
- [74] Cambridge Crystallographic Data Centre, "Estructura cristalina de Equol," 2005. [Online]. Available: <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/Search?Ccdcid=257343>
- [75] Cambridge Crystallographic Data Centre, "Estructura cristalina de Daidzeína," 2017. [Online]. Available: <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/Search?Ccdcid=1561888>
- [76] C. F. Macrae *et al.*, "Mercury 4.0 : from visualization to analysis, design and prediction," *J Appl Crystallogr*, vol. 53, no. 1, pp. 226–235, Feb. 2020, doi: 10.1107/S1600576719014092.

- [77] National Center for Biotechnology Information, "PubChem Compound Summary for CID 5317750, Glycitein," 2025. [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glycitein>
- [78] M. J. Frisch *et al.*, "Gaussian 16 Rev. C.01," 2016, *Wallingford, CT*.
- [79] G. A. Petersson, A. Bennett, T. G. Tensfeldt, M. A. Al-Laham, W. A. Shirley, and J. Mantzaris, "A complete basis set model chemistry. I. The total energies of closed-shell atoms and hydrides of the first-row elements," *J Chem Phys*, vol. 89, no. 4, pp. 2193–2218, Aug. 1988, doi: 10.1063/1.455064.
- [80] R. Dennington, T. A. Keith, and J. M. Millam, "GaussView Version 6," 2019.
- [81] Protein Data Bank, "HUMAN ESTROGEN RECEPTOR LIGAND-BINDING DOMAIN IN COMPLEX WITH 17BETA-ESTRADIOL," Sep. 16, 1998. doi: 10.2210/pdb1ere/pdb.
- [82] Protein Data Bank, "Structure of the D2 Dopamine Receptor Bound to the Atypical Antipsychotic Drug Risperidone," Mar. 14, 2018. doi: 10.2210/pdb6cm4/pdb.
- [83] P. C. T. Souza, L. C. Textor, D. C. Melo, A. S. Nascimento, M. S. Skaf, and I. Polikarpov, "An alternative conformation of ER β bound to estradiol reveals H12 in a stable antagonist position," *Sci Rep*, vol. 7, no. 1, p. 3509, Jun. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-03774-x.
- [84] A. M. Brzozowski *et al.*, "Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor," *Nature*, vol. 389, no. 6652, pp. 753–758, Oct. 1997, doi: 10.1038/39645.
- [85] S. Wang, T. Che, A. Levit, B. K. Shoichet, D. Wacker, and B. L. Roth, "Structure of the D2 dopamine receptor bound to the atypical antipsychotic drug risperidone," *Nature*, vol. 555, no. 7695, pp. 269–273, Mar. 2018, doi: 10.1038/nature25758.
- [86] L. Fan *et al.*, "Haloperidol bound D2 dopamine receptor structure inspired the discovery of subtype selective ligands," *Nat Commun*, vol. 11, no. 1, p. 1074, Feb. 2020, doi: 10.1038/s41467-020-14884-y.